

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Evaluación del bioaerosol fúngico presente en el aire interior de las
clínicas de podología de la Comunidad de Madrid**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Beatriz Alija Martínez

Directores

Ricardo Becerro de Bengoa Vallejo

Marta Elena Losa Iglesias

Luis Alou Cervera

Madrid, 2019

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA



**EVALUACIÓN DEL BIOAEROSOL FÚNGICO PRESENTE EN
EL AIRE INTERIOR DE LAS CLÍNICAS DE PODOLOGÍA DE
LA COMUNIDAD DE MADRID**

Tesis Doctoral

Beatriz Alija Martínez

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA



**EVALUACIÓN DEL BIOAEROSOL FÚNGICO PRESENTE
EN EL AIRE INTERIOR DE LAS CLÍNICAS DE PODOLOGÍA
DE LA COMUNIDAD DE MADRID**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA
PRESENTADA POR**

Beatriz Alija Martínez

Bajo la dirección de los Doctores:

Ricardo Becerro de Bengoa Vallejo
Marta Elena Losa Iglesias
Luis Alou Cervera

Madrid, 2017

Amistad

Junto a mis amigos
estoy descubriendo el
despertar de la vida,
el correr del tiempo.
Con ellos río,
con ellos lloro,
con ellos comparto
mis tiempos de ocio.
Son mis amigos
un gran tesoro.

M^a DEL PILAR PUENTE REGO
“POESIA PARA SOÑAR”

A mis padres y a Mónica,
A Rubén y a mis hijos Inés y Rubén

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todos los que han hecho posible este trabajo:

A mis tres directores de tesis, la Dra. Marta Losa y al Dr. Ricardo Becerro de Bengoa, por el apoyo brindado tanto para poder llevar a cabo la realización de esta tesis como el recibido a lo largo de toda mi trayectoria profesional. Gracias por la motivación a través de vuestro gran trabajo. Al Dr. Luis Alou, por su paciencia, por su dedicación a todo el procesado y análisis de muestras, por sus consejos y por su buen hacer.

Al Dr. David Sevillano por sus charlas y a Natalia González Hidalgo por su cometido en el laboratorio y por ayudarme a entender mejor alguno de los procesos analíticos aplicados a este proyecto de investigación.

De manera también muy especial quiero agradecer a todos los compañeros podólogos, de la Ciudad de Madrid, que han participado en esta tesis poniendo sus clínicas, personal y tiempo de su jornada laboral, implicándose al máximo para el correcto desarrollo de esta investigación. Una mención especial al compañero Julio López Morales; fue un privilegio para mí llegar a conocerle.

Para Oliver Martín, Paloma del Pozo y Maika, por el tiempo dedicado a toda la parte de la bibliografía, búsqueda de artículos y por vuestra disposición siempre a echarme una mano.

Para Amaya Sayas, por su tiempo y por poder contar con el software SPSS para la realización de toda la parte de estadística y ayudarme a entender mejor su funcionamiento. Para Manuel, gracias por "cuidar del barco" en mis ausencias.

A mi familia, pilar fundamental en el desarrollo de esta tesis: Elena, Alicia y Kike, Arrate y Roberto, gracias por hacer posible conciliar el tiempo necesario en los momentos clave. A todo el resto de la familia, por estar ahí y saber que cuento con ellos.

A Melissa, por estar día a día conmigo haciéndolo todo más fácil y con tanta complicidad.

Mi reconocimiento y gratitud a mi madre y a mi hermana Mónica. Luchadoras incansables, son un ejemplo para mí. Su apoyo incondicional y su confianza en mí a lo largo de todos estos años ha sido fundamental para llegar hoy a presentar esta tesis.

Para mi marido Rubén y para mis hijos, Inés y Rubén, no tengo palabras para expresar mi agradecimiento por tenerlos a mi lado, cada día, cargándome de energía. Gracias por su alegría y profundo cariño.

INDICE



RESUMEN	3
ABSTRACT	9
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Los bioaerosoles y la aerobiología	15
1.2. Calidad del aire interior	17
1.2.1. Importancia de la Calidad del Aire Interior.	17
1.2.2. Biocontaminantes. Hongos y levaduras.	19
1.2.2.1. Desarrollo de los hongos filamentosos y su distribución en aire	19
1.2.3. Estudios del aire en la Ciudad de Madrid.	22
1.2.4. Estudios del aire interior en edificios y su relación con las enfermedades profesionales.	25
1.3. Normativa general acerca de la calidad del aire interior	27
1.3.1. Introducción	27
1.3.2. Legislación y normativa nacional	28
1.3.3. Notas técnicas de prevención (NTPs)	31
1.3.4. Iniciativas privadas, programas y proyectos internacionales / europeos	35
1.3.5. Normativa aplicable a las clínicas podológicas a efectos de comparación de resultados.	36
1.3.6. Criterios de valoración para la interpretación de resultados	39
1.4. La podología como profesión de riesgo ocupacional	44
1.4.1. Onicomycosis	45
1.4.2. Diagnóstico de la onicomycosis	47
1.4.3. <i>Trichophyton</i> : Un alérgeno intrínseco	48
1.4.4. Sistemas de aspiración en equipos de podología	48
1.5. Antecedentes de sintomatología alérgica entre el colectivo podólogo	49
1.6. Estudios del aire ambiental en el sector de la podología	51
1.7. Justificación de la presente investigación de Doctorado	56
2. OBJETIVOS	61
2.1. Estudio bioaerosol: hongos dermatofitos	61
2.2. Estudio del bioaerosol: hongos filamentosos y levaduras	62
3. MATERIAL Y MÉTODO	65
3.1. Medición ambiental de los agentes biológicos. Estrategia de muestreo.	65
3.1.1. Propósito de una medición ambiental.	66
3.1.2. Lugar de muestreo. Selección de las clínicas. Consentimiento informado.	67
3.1.3. Momento y frecuencia del muestreo. Medios de cultivo seleccionados.	68
3.1.4. Duración y volumen del muestreo.	75
3.1.5. Equipos de muestreo	76
3.1.6. Transporte de las muestras durante la presente investigación	85
3.1.7. Análisis de las muestras. Condiciones de incubación.	85
3.1.8. Recuento de colonias.	86
3.1.9. Identificación de Hongos filamentosos en la presente investigación.	86
3.2. Criterios de selección de los pacientes. Fase de actividad.	88
3.3. Análisis estadístico.	89



4.	RESULTADOS PARTE I: ESTUDIO HONGOS DERMATOFITOS	93
4.1.	Análisis de las muestras – Fase de <i>Actividad</i>	93
4.1.1.	Análisis de casos totales (n=34)	93
4.1.2.	Análisis de casos con sospecha (n ₁ =18)	95
4.2.	Análisis de las variables tenidas en cuenta en el estudio	96
4.2.1.	Variable (i): “Sospecha de onicomicosis”	97
4.2.2.	Variable (ii): “Utilización de los sistemas de aspiración”	97
4.2.3.	Variable (iii): “Estación de muestreo: Primavera - Verano”	99
4.2.4.	Variable (iv): “Utilización de a/a durante la fase de actividad”	99
4.2.5.	Variable (v): “Dimensiones de la sala”	99
4.2.6.	Variable (vi): “Hora de toma de muestra en fase de actividad”	100
4.2.7.	Variable (vii): “Presencia de ventanas en la sala”	100
4.2.8.	Variable (viii): “Tª de la sala durante el muestreo”	100
4.2.8.1.	Tª de las salas durante la estación de Primavera	101
4.2.8.2.	Temperatura de la sala durante la estación de verano.	102
4.2.9.	Variable (ix): “Humedad relativa de la sala”	103
5.	PARTE II: RESULTADOS ESTUDIO HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS	107
5.1.	Estudio de la carga fúngica: EXTERIOR	108
5.1.1.	Comparación carga fúngica total exterior Primavera-Verano.	108
5.1.2.	Comparación de las especies de exterior. Primavera - Verano.	109
5.1.3.	Estudio de prevalencia de las especies de exterior. Primavera-Verano	112
5.2.	Estudio de la carga fúngica: INTERIOR.	114
5.2.1.	Comparación carga fúngica total interior Primavera-Verano.	114
5.2.2.	Estudio de prevalencia de las especies de interior. Primavera-Verano.	116
5.2.3.	Análisis de las especies de interior por clínica. Primavera.	118
5.2.4.	Análisis de las especies de interior por clínica. Verano.	120
5.3.	Estudio de la carga fúngica: POR CLINICA.	122
5.3.1.	Campaña de primavera. Comparación Interior – Exterior.	122
5.3.2.	Campaña de primavera. Análisis por especies. Interior - Exterior.	124
5.3.3.	Campaña de verano. Comparación Interior – Exterior	126
5.3.4.	Campaña de verano. Análisis por especies. Interior-Exterior.	128
5.4.	Análisis de la carga fúngica total: POR ESTACIONES.	130
5.4.1.	Campaña de primavera. Comparación entre Interior-Exterior	130
5.4.2.	Campaña de primavera. Análisis por especies. Comparativa Interior-Exterior	132
5.4.3.	Campaña de verano. Comparación entre Interior-Exterior	134
5.4.4.	Campaña de verano. Análisis por especies. Comparativa Interior-Exterior.	135
5.5.	Análisis de la carga fúngica entre las cuatro fases de muestreo.	137
5.5.1.	Comparación de la carga fúngica entre fases de muestreo (Verano)	137
5.5.1.1.	Análisis general: carga fúngica total	138
5.5.1.2.	Análisis específico: por especies	139
5.5.2.	Comparación de la carga fúngica entre fases de muestreo (Primavera)	143
5.5.2.1.	Análisis general: carga fúngica total	143



5.5.2.2.	Análisis específico: por especies	145
5.6.	Análisis entre FASES DE INTERIOR. Primavera - Verano	148
5.6.1.	Análisis general: carga fúngica total	148
5.6.2.	Análisis por especies: fase de pre actividad	150
5.6.3.	Análisis por especies: fase de actividad	151
5.6.4.	Análisis por especies: fase de post actividad.	153
5.7.	Análisis de la carga fúngica total obtenida en el estudio	156
5.7.1.	Análisis general. Carga fúngica total. Comparación Interior - Exterior.	156
5.7.2.	Análisis por especies. Comparación entre Interior - Exterior	157
5.7.3.	Análisis entre fases de muestreo.	159
5.7.4.	Análisis de la carga fúngica interior. Comparación entre clínicas	161
5.8.	Análisis de otras variables consideradas en el estudio	164
5.8.1.	Variables (i y ii): "Relación de la temperatura y humedad relativa"	164
5.8.1.1.	Análisis general Temperatura (T ^a).	164
5.8.1.2.	Análisis general. Humedad relativa (HR)	167
5.8.1.3.	Análisis estadístico general.	169
5.8.1.4.	Análisis estadístico por especies	170
5.8.2.	Variable (iii) "Utilización de los sistemas de climatización"	172
5.8.3.	Variable (iv) "Dimensiones de la sala".	172
5.8.4.	Variable (v) "Presencia de ventanas en la sala"	173
6.	DISCUSION	177
6.1.	PARTE I: Discusión análisis hongos dermatofitos	177
6.1.1.	Valoración de la generación de bioaerosoles contaminados por dermatofitos	177
6.1.2.	Cuantificación e identificación de dermatofitos en el aire interior de las clínicas	179
6.1.3.	Importancia de la variable "sospecha de onicomycosis"	182
6.1.4.	Importancia de la variable "utilización de sistema de aspiración"	182
6.1.5.	Revisión de otras variables del estudio	185
6.2.	PARTE II. Discusión: hongos filamentosos (no dermatofitos).	186
6.2.1.	Carga fúngica encontrada en el exterior de las clínicas	187
6.2.2.	Carga fúngica encontrada en el interior de las clínicas	188
6.2.3.	Comparación Interior-Exterior	190
6.2.4.	Otras limitaciones del estudio	192
7.	CONCLUSIONES	197
8.	BIBLIOGRAFIA	201
	ANEXOS	220
	Anexo 1.Consentimiento Informado	225
	Anexo 2.Resultados de los muestreos en la estación de primavera	229
	Anexo 3.Resultados de los muestreos en la estación de verano	233



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de un hongo filamentoso (<i>Shipper, 2000</i>).....	20
Figura 2. Fotografía del medio de cultivo SDA.....	69
Figura 3. Fotografía del medio de cultivo MYC.....	70
Figura 4. Registro fotográfico de la toma de muestra exterior en la vía pública.....	71
Figura 5. Placas con los medios de cultivo y su denominación.....	72
Figura 6. Registro fotográfico de las tomas de muestra interior pre- y post-actividad.....	73
Figura 7. Registro fotográfico de la toma de muestra de hongos filamentosos en la fase de actividad (sin fresado).....	74
Figura 8. Registro fotográfico de la toma de muestra de hongos dermatofitos en la fase de actividad (durante el fresado).....	74
Figura 9. Métodos de muestreo, ensayos analíticos y determinaciones de los agentes biológicos de agentes biológicos.....	78
Figura 10. Cassetes del M Air T donde se observa la rejilla que divide la placa en secciones.....	82
Figura 11. Muestreadores multiorificio.....	84
Figura 12. Relación entre el número de muestras positivas durante la actividad y los casos de sospecha de onicomicosis.....	95
Figura 13. Distribución en porcentaje de los sistemas de aspiración utilizados en las clínicas.....	98
Figura 14. Relación entre los distintos sistemas de aspiración y la presencia de hongos dermatofitos en las muestras.....	98
Figura 15. Rangos de temperatura en salas de Quiropodología - Campaña de Primavera.....	101
Figura 16. Rangos de temperatura en salas de Quiropodología - Campaña de Verano.....	102
Figura 17. Humedad relativa en las salas de Quiropodología - Campaña de primavera.....	103
Figura 18. Humedad relativa en las salas de Quiropodología - Campaña de verano.....	104
Figura 19. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas en el Exterior en Primavera y Verano.....	108
Figura 20. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) para cada una de las especies muestreadas en Exterior en primavera y verano.....	110
Figura 21. Prevalencia de los trece especies encontrados en Exterior, entre primavera y verano.....	112
Figura 22. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas en el Interior en Primavera y Verano.....	114
Figura 23. Estudio de la prevalencia de los 13 hongos de interior encontrados, contrastando los hongos encontrados en Interior (Primavera) con Interior (Verano).....	116
Figura 24. Gráfico que representa la concentración de cada especie por clínica. Estación de primavera.....	119
Figura 25. Gráfico que representa la concentración de cada especie por clínica. Estación de verano.....	121
Figura 26. Carga fúngica total (UFC/m ³) en interior y exterior en la campaña de primavera.....	123
Figura 27. Carga fúngica total (UFC/m ³) en interior y exterior en la campaña de verano.....	127
Figura 28. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas en el Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en la estación de Primavera.....	131
Figura 29. Diagrama de distribución de concentraciones entre ambientes Exterior e Interior para cada una de las especies (UFC/m ³) en la estación de primavera.....	132
Figura 30. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas en el Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en la estación de Verano.....	134
Figura 31. Diagrama de distribución de concentraciones entre ambientes Exterior e Interior para cada una de las especies (UFC/m ³) en la estación de verano.....	136
Figura 32. Distribución de concentraciones de la carga total fúngica (UFC/m ³) contrastados entre cada una de las fases de muestreo. Estación de verano.....	138
Figura 33. Distribución de concentraciones de las 11 especies, orden Mucorales y Levaduras detectadas (UFC/m ³) en cada una de las fases de muestreo. Estación de verano.....	140
Figura 34. Distribución de concentraciones de la carga fúngica (UFC/m ³) contrastados entre cada una de las fases de muestreo. Estación de primavera.....	143
Figura 35. Distribución de concentraciones de las 11 especies, orden Mucorales y Levaduras, detectadas (UFC/m ³) en cada una de las fases de muestreo. Estación de primavera.....	145
Figura 36. Distribución de concentraciones de la carga fúngica (UFC/m ³) para cada una de las fases de muestreo interior de las clínicas en primavera y verano.....	148
Figura 37. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m ³) en la fase de pre actividad, en primavera y verano.....	150



Figura 38. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m ³) en la fase de actividad, en primavera y verano.	152
Figura 39. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m ³) en la fase de post actividad, en primavera y verano.	154
Figura 40. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas en Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en las estaciones de primavera y verano. Se elimina el factor estacional.	156
Figura 41. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m ³) encontradas para cada una de las especies muestreadas en el Exterior total estudio vs. Interior total estudio.	158
Figura 42. Niveles de la carga fúngica (UFC/m ³) encontrados en Interior Pre Actividad, Actividad y Post Actividad en el total del estudio vs. Exterior total estudio.	160
Figura 43. Diagrama de la concentración (UFC/m ³) encontrados en el interior de las 17 clínicas analizadas, eliminado el factor estacional.	162
Figura 44. Temperatura ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de primavera.	165
Figura 45. Temperatura ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de verano.	166
Figura 46. Humedad relativa ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de primavera.	168
Figura 47. Humedad relativa ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de verano.	169
Figura 48. Tipos comunes de mascarillas FFP2.	178



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Método de análisis y criterio de valoración para bacterias y hongos. NORMA UNE 171330-2:2014	44
Tabla 2. Relación interior-exterior cuando no se pueda aplicar la tabla 1.....	44
Tabla 3. Factores de diagnóstico de la onicomycosis causada por dermatofitos.....	47
Tabla 4. Diámetro aerodinámico (D_A) de contaminantes biológicos presentes en el aire interior. NTP 1064. Contaminantes biológicos. Equipos de muestreo.....	77
Tabla 5. Equipos de captación. Ventajas e inconvenientes de los principales tipos de captación.....	79
Tabla 6. Aspectos que pueden incidir en los resultados obtenidos en la medición de microorganismos viables y cultivables.....	80
Tabla 7. Parámetros estudiados de diversos impactadores.....	81
Tabla 8. Número total de colonias (UFC/ m^3) para cada clínica durante las dos estaciones (P y V).....	94
Tabla 9. Distribución de hongos dermatofitos por especies y su concentración por clínica y campaña de muestreo.....	94
Tabla 10. Distribución de los casos con sospecha de onicomycosis en las muestras totales analizadas. Distribución estacional (primavera/verano).	95
Tabla 11. Asociación entre las distintas variables y la presencia de dermatofitos en las muestras analizadas (estadístico Chi-Cuadrado).....	96
Tabla 12. Valores de la mediana en exterior (UFC/ m^3) para primavera y verano.....	109
Tabla 13. Prueba estadística de contraste comparando las cargas totales en exterior para primavera y verano.....	109
Tabla 14. Valores de la mediana por especies en exterior (UFC/ m^3) para primavera y verano en las clínicas analizadas.....	111
Tabla 15. Prueba estadística de contraste entre especies EXT primavera vs EXT verano	111
Tabla 16. Concentración total para cada especie (UFC/ m^3) en la fase exterior de todas las clínicas y prevalencia (%) estacional de cada una de ellas.....	113
Tabla 17. Valores de la mediana en Interior (UFC/ m^3) para primavera y verano en las clínicas analizadas.....	115
Tabla 18. Prueba estadística de contraste comparando las cargas totales en interior para primavera y verano.....	115
Tabla 19. Concentración promedio (UFC/ m^3) para cada una de las especies encontradas en interior, en las diecisiete clínicas analizadas y prevalencia (%) de cada una de ellas en la estación de primavera y verano.	117
Tabla 20. Concentración promedio de cada especie en la fase de Interior. Primavera.	120
Tabla 21. Concentración promedio de cada especie en la fase de Interior. Verano.	122
Tabla 22. Valores de la concentración (UFC/ m^3) en interior y exterior por clínica, media y desviación estándar correspondientes a la Figura 26. Campaña de primavera.....	124
Tabla 23. Concentración (promedio) de cada especie en la fase de Interior y exterior. Primavera.....	125
Tabla 24. Resultados de la carga total fúngica (UFC/ m^3) en interior y exterior por clínica. Campaña de verano.....	128
Tabla 25. Concentración (promedio) de cada especie en la fase de Interior y exterior, por clínica. Verano.....	129
Tabla 26. Valores de la mediana (UFC/ m^3) en los ambientes Exterior e Interior de las clínicas analizadas en la estación de primavera.	131
Tabla 27. Prueba estadística de contraste comparando Total Interior vs. Exterior. Estación primavera.	132
Tabla 28. Valores de la mediana en ambiente exterior e interior (UFC/ m^3) para cada una de las especies en la estación de primavera.	133
Tabla 29. Prueba estadística de contraste entre especies en ambiente exterior e interior. Estación de Primavera.....	133
Tabla 30. Valores de la mediana (UFC/ m^3) en los ambientes Exterior e Interior de las clínicas analizadas en la estación de verano.	135
Tabla 31. Prueba estadística de contraste comparando Total Interior vs Exterior. Estación Verano.....	135
Tabla 32. Valores de la mediana en ambiente exterior e interior (UFC/ m^3) para cada una de las especies en la estación de verano.....	137
Tabla 33. Prueba estadística de contraste entre especies en ambiente exterior e interior. Estación de Verano.....	137



Tabla 34. Valores de la mediana de la carga fúngica total (UFC/m ³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de verano.	139
Tabla 35. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medianas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Verano.	139
Tabla 36. Valores de la mediana de cada especie (UFC/m ³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de verano.	141
Tabla 37. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medias obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Verano para cada una de las especies analizadas.	142
Tabla 38. Valores de la mediana de la carga fúngica (UFC/m ³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de primavera.	144
Tabla 39. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medias obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Primavera.	144
Tabla 40. Valores de la mediana de cada especie (UFC/m ³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de primavera.	146
Tabla 41. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medianas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Primavera para cada una de las especies analizadas.	147
Tabla 42. Valores de la mediana de la carga fúngica (UFC/m ³) para cada fase de muestreo interior (pre actividad, actividad y post actividad) en primavera y verano.	149
Tabla 43. Análisis estadístico de la carga fúngica total para cada fase de muestreo interior en las estaciones de primavera y verano.	149
Tabla 44. Valores de la mediana (UFC/m ³) obtenidos para cada especie durante la fase de pre actividad en primavera y verano.	151
Tabla 45. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de pre actividad, en primavera y verano.	151
Tabla 46. Valores de la mediana (UFC/m ³) obtenidos para cada especie durante la fase de actividad en primavera y verano.	153
Tabla 47. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de actividad, en primavera y verano.	153
Tabla 48. Valores de la mediana (UFC/m ³) obtenidos para cada especie durante la fase de post actividad en primavera y verano.	155
Tabla 49. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de post actividad, en primavera y verano.	155
Tabla 50. Valores de la mediana (UFC/m ³) de la carga fúngica total encontrada en el ambiente exterior e interior de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.	157
Tabla 51. Valores de la prueba estadística correspondiente a la Figura 40.	157
Tabla 52. Valores de la mediana (UFC/m ³) de cada una de las especies en el ambiente exterior e interior de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.	159
Tabla 53. Prueba estadística de contraste entre especies Exterior total estudio vs Total Interior estudio.	159
Tabla 54. Valores de la mediana (UFC/m ³), para cada una de las fases de muestreo en las 17 clínicas eliminando el factor estacional (Fig. 42).	161
Tabla 55. Prueba estadística de contraste para las distintas fases de interior vs. Exterior eliminando el factor estacional.	161
Tabla 56. Prueba estadística de contraste (Test De Comparación Múltiple de Dunn's) comparando cada una de las fases de interior vs. Exterior eliminando el factor estacional.	161
Tabla 57. Valores de la mediana y prueba estadística de contraste para cada una de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.	163
Tabla 58. Prueba estadística de contraste entre clínicas comparando Interior Clínica vs. Clínica. Eliminado factor estacional.	163
Tabla 59. Valores máximos y mínimos y valores límite para humedad relativa y temperatura. Norma UNE 171330:2014.	164
Tabla 60. Prueba estadística de contraste para la Tª y H.R en relación al total de hongos filamentosos encontrados en cada una de las fases de interior analizadas, en las dos estaciones muestreadas.	170



Tabla 61. Prueba estadística de contraste para la T ^a y H.R en relación a las especies principales encontradas en cada una de las fases de interior analizadas, en las dos estaciones muestreadas.....	171
Tabla 62. Prueba estadística de contraste para la relación entre las dimensiones de la sala y la concentración de hongos obtenida. Estación de primavera.	172
Tabla 63. Prueba estadística de contraste para la relación entre las dimensiones de la sala y la concentración de hongos obtenida. Estación de verano.	173
Tabla 64. Prueba estadística de contraste para la relación entre la presencia de ventanas en las salas y la concentración de hongos obtenida. Estación de primavera.	173
Tabla 65. Prueba estadística de contraste para la relación entre la presencia de ventanas en las salas y la concentración de hongos obtenida. Estación de verano.	174

RESUMEN



RESUMEN

Introducción

La importancia del estudio planteado radica en la evaluación de la calidad biológica del aire que respiramos. Según la OMS, la población urbana pasa más del 80% de su tiempo en espacios cerrados, cuyo aire está contaminado en mayor o menor grado, con los problemas de salud que esto conlleva.

Específicamente, este estudio se centra en la podología como profesión de riesgo ocupacional. Durante la práctica podológica existe un riesgo potencial asociado a la inhalación del polvo generado en la actividad de fresado de uñas. Este polvo ha sido clasificado como un alérgeno Tipo I, rico en endotoxinas y especies fúngicas tales como el *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Entre los síntomas alérgicos asociados a la inhalación del polvo de uña se encuentran: rinitis, conjuntivitis, urticaria, asma y tos productiva.

El objetivo principal de la investigación es el análisis del bioaerosol fúngico (hongos hongos filamentosos y levaduras) presente en el aire interior de las salas de quiropodología.

Entre los **objetivos secundarios** se encuentran:

- ✓ Conocer si determinados tratamientos generan bioaerosoles contaminados por hongos filamentosos procedentes del fresado de las láminas ungueales y si éstos pueden suponer un potencial riesgo para la salud del podólogo.
- ✓ Cuantificar e identificar los niveles de esporas de hongos filamentosos y levaduras, presentes en el aire interior de las clínicas.
- ✓ Estudiar la relación entre un conjunto de variables: estacionalidad, ambiente interior frente a exterior, temperatura / humedad relativa, características de las salas, etc.
- ✓ Comparar los resultados obtenidos con diversas referencias identificadas que, se considera, podrían ser aplicables a las clínicas de podología.

Material y Método

Se basa en un estudio piloto realizado en diecisiete clínicas del ámbito privado en la Ciudad de Madrid, durante las estaciones de primavera y verano. Se utilizó un muestreador por impacto (Mair T-Millipore), con una eficacia de muestreo conocida y documentada. Se tomaron seis muestras de aire en el interior de las clínicas (durante las fases de pre actividad, actividad y post actividad) – dos por fase – cada una en un medio de cultivo con diferente especificidad para el crecimiento de hongos; además de dos muestras exteriores como referencia comparativa.



Las placas de agar obtenidas en los muestreos fueron enviadas al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) donde se procesaron siguiendo metodologías analíticas convencionales y técnicas de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) para la detección–confirmación de hongos dermatofitos.

Resultados

Únicamente se obtuvieron hongos dermatofitos viables durante la fase de actividad (fresado de uñas) en 8 de las 34 muestras analizadas (23,5%). Las especies aisladas fueron *Trichophyton rubrum* (75%) y *Trichophyton mentagrophytes*. Las dos variables que influyeron en los resultados fueron: (i) "sospecha de onicomicosis" en los pacientes ($p=0,03$; 100% de los casos positivos) y; (ii) "utilización de los sistemas de aspiración" de aire, con un 13,6% de muestras con presencia de dermatofitos incluso utilizando estos sistemas. El resto de muestras interiores y exteriores no mostraron positivos por dermatofitos.

Respecto a los hongos filamentosos y levaduras, en el exterior de las clínicas se tomaron un total de 34 muestras de aire en ambas estaciones, con una concentración total de 854UFC/m³ y un reparto de 571UFC/m³ en primavera y 283UFC/m³ en verano ($p=0,013$).

En el interior de las clínicas se tomaron un total de 102 muestras en ambas estaciones con una concentración total de 1107UFC/m³, que se repartieron en 647UFC/m³ en primavera y 460UFC/m³ en verano ($p=0,2625$).

Las especies identificadas fueron: *Cladosporium* spp.; *Penicillium* spp.; *Aspergillus* spp.; *Alternaria* spp.; *Paecilomyces* spp.; *Scopulariopsis* spp.; *Curvularia* spp.; *Drechslera* spp.; *Trichoderma* spp.; *Absidia* spp.; *Ulocladium* spp.; orden Mucorales y Levaduras.

Las especies más prevalentes tanto en interior como en exterior en ambas estaciones fueron *Cladosporium* spp. (34%P-23%V exterior; 29%P-26%V interior) seguido de *Penicillium* spp. (24%P-17%V exterior; 26%P-12%V interior).

El promedio de las cargas fúngicas en cada fase de muestreo interior fue de 14,59UFC/m³ pre actividad, 14,35UFC/m³ actividad, 9,53UFC/m³ post actividad en primavera y; 11,59UFC/m³ pre actividad, 8,41UFC/m³ actividad, 7,06UFC/m³ post actividad en verano, no resultando ninguna relación estacional entre fases. La concentración para las diferentes especies en interior osciló entre no detectado - 85UFC/m³ en primavera y no detectado - 60UFC/m³ en verano.

Conclusiones

- 1) El estudio confirma la presencia de dermatofitos viables únicamente en las muestras tomadas en la fase de actividad y durante el fresado de uñas de pacientes con "sospecha de onicomicosis".
- 2) Las dos especies de hongos dermatofitos aisladas fueron *Trichophyton rubrum* (75%) y *Trichophyton mentagrophytes*.



- 3) Algunos positivos por dermatofitos se dieron incluso utilizando “sistemas de aspiración” del polvo de uña por lo que estos sistemas si bien disminuyen la cantidad de polvo emitido, no son infalibles.
- 4) *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp. son las especies más prevalentes tanto en interior como en exterior y para la estación de primavera y verano. Sus niveles fluctuaron acorde a la variación exterior, lo que confirma que estos hongos son los que han penetrado desde fuera sorteando las barreras físicas.
- 5) La concentración total exterior de hongos filamentosos presenta una influencia estacional significativa, no siendo así en el caso de la concentración interior que se mantiene estable en ambas estaciones.
- 6) Aunque la carga fúngica promedio en interior disminuye, de forma general, a lo largo de la jornada laboral esta disminución no es estadísticamente significativa, por lo que se concluye que la circulación de personas por la sala no influye en la concentración detectada.
- 7) Ni la temperatura ni otras variables analizadas han influido significativamente en la concentración fúngica del presente estudio, con la excepción puntual de la humedad relativa.
- 8) La concentración de hongos filamentos detectada en aire interior de las clínicas no excede el criterio de confort de la norma UNE171330:2 (200UFC/m³). Por tanto, se concluye que el ambiente interior de las clínicas analizadas no es molesto para la mayoría de población.
- 9) El resto de criterios propuestos por otras organizaciones internacionales se han cumplido de forma general exceptuando casos puntuales cuyos rangos de discrepancia han sido muy bajos.

Palabras clave: exposición laboral, trichophyton, polvo de uña, podología, bioaerosol fúngico, agentes biológicos, Índices biológicos exposición, calidad del aire interior.

ABSTRACT



ABSTRACT

Introduction

The importance of the study lies in the evaluation of the biological quality of the air we breathe. According to the OMS, the urban population spends more than 80% of its time in closed spaces, in which air is contaminated to a greater or lesser degree, with the health problems that this entails.

Specifically, this study focuses on podiatry as an occupational risk profession. In the course of the podiatric practice there is a potential risk associated with the inhalation of dust generated during nail milling activities. This powder has been classified as a Type I allergen, rich in endotoxins and fungal species such as *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. Among the allergic symptoms associated with the inhalation of nail dust are rhinitis, conjunctivitis, urticaria, asthma and productive cough.

The main objective of the research is the analysis of fungal bioaerosol (filamentous fungi and yeasts) present in the indoor air of chiropodology rooms.

Among **the secondary objectives** are:

- ✓ To find out if certain treatments generate bioaerosols contaminated by filamentous fungi and if these may pose a potential risk to the health of the podiatrist.
- ✓ To quantify and identify the levels of spores of filamentous fungi and yeasts present in the indoor air of the clinics.
- ✓ To study the relationships among a set of variables: seasonality, indoor / outdoor environments, temperature / relative humidity, room characteristics, etc.
- ✓ To compare the obtained results with various identified references which are considered potentially applicable to podiatry clinics.

Material and Methods

It is based on a pilot study carried out in seventeen private clinics in the city of Madrid during the spring and summer seasons. An impact sampler (Mair T-Millipore) was used, with a known and documented sampling efficiency. Six indoor air samples were taken inside the clinics (during the pre-activity, activity and post-activity phases) - two per phase - each in a culture media with different specificity for fungal growth. In addition, two outdoor air samples were taken to be used as a comparative reference.

The agar plates obtained during sampling were sent to the Laboratory of Microbiology of the Complutense University of Madrid (UCM) where they were processed following conventional analytical methodologies and Polymerase Chain Reaction (PCR) techniques for the detection



and confirmation of dermatophyte fungi .

Results

Viable dermatophyte fungi were obtained only during the activity phase (nail milling) in 8 of the 34 air samples analyzed (23.5%). The isolated species were *Trichophyton rubrum* (75%) and *Trichophyton mentagrophytes*. The two variables that influenced the results were: (i) "suspicion of onychomycosis" in patients ($p = 0.03$, 100% of positive cases) and; (ii) "use of air aspiration systems", with 13.6% of samples showing presence of dermatophytes even when using these systems. The rest of indoor and outdoor samples did not show positive results for dermatophytes.

With regards to filamentous fungi and yeasts, a total of 34 outdoor air samples were collected during both seasons, with a total concentration of 854 CFU/m³ divided as follows: 571 CFU/m³ in spring and 283 CFU/m³ in summer ($p = 0.013$).

A total of 102 indoor air samples were taken between both seasons with a total concentration of 1107 CFU/m³, distributed in 647 CFU/m³ in spring and 460 CFU/m³ in the summer ($p = 0.2625$).

The isolated species were: *Cladosporium* spp.; *Penicillium* spp.; *Aspergillus* spp.; *Alternaria* spp.; *Paecilomyces* spp.; *Scopulariopsis* spp.; *Curvularia* spp.; *Drechslera* spp.; *Trichoderma* spp.; *Absidia* spp.; *Ulocladium* spp.; a Mucorales order and yeasts.

The most prevalent species in indoors and outdoors in both seasons were *Cladosporium* spp. (34% Spring-23% Summer outdoors, 29% Spring-26% Summer indoors) followed by *Penicillium* spp. (24% Spring-17% Summer outdoors, 26% Spring-12% Summer indoors).

The average fungal load in each indoor sampling phase was 14.59 CFU/m³ pre-activity, 14.35 CFU/m³ activity, 9.53 CFU/m³ post-activity in the spring season and; 11.59 CFU/m³ pre-activity, 8.41 CFU/m³ activity, 7.06 CFU/m³ post-activity in the summer season, resulting in no seasonal relationship between phases. The concentration of different species ranged from undetected – 85 CFU/m³ in spring and undetected – 60 CFU/m³ in summer.

Conclusions

- 1) The study confirms the presence of viable dermatophytes only in the samples taken during the activity phase and while the nail milling of patients with "suspected onychomycosis" was performed.
- 2) Some positives for dermatophytes were detected even when using "aspiration systems" for nail dust. These systems, although they reduce the amount of dust emitted, are not infallible.
- 3) *Cladosporium* spp. and *Penicillium* spp. are the most prevalent species both indoors and outdoors, confirming that the filamentous fungi detected indoor are those that



have penetrated from the outside. Yeasts and *Scopulariopsis* spp. show a very low representation, both indoors and outdoors.

- 4) The total outdoor concentration of filamentous fungi presents a significant seasonal influence, not being the case for indoor concentration, which remains stable in both seasons.
- 5) No significant seasonal influence was found for any of the species detected indoors and outdoors, so it is concluded that there is no great variability of fungal species between seasons.
- 6) Although the average indoor fungal load generally decreases throughout the working day, this decrease is not statistically significant, so it is concluded that the circulation of people in the room does not influence the concentrations detected.
- 7) Neither the temperature nor other variables analyzed have significantly influenced the fungal concentration of the present study, with the particular exception of relative humidity.
- 8) The average concentration of filamentous fungi detected in clinics' indoor air does not exceed the comfort criteria included in the UNE171330:2 "Indoor air environmental quality standard" (200CFU/m³). Therefore, it is concluded that the indoor environment of the analyzed clinics is not annoying for the majority of the population.
- 9) The rest of the criteria evaluated have been generally fulfilled, except for isolated cases whose ranges of discrepancies have been very low.

Keywords: occupational exposure, trichophyton, nail dust, podiatry, airborne fungi, biological agents, biological exposure indices, indoor air quality.

INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Los bioaerosoles y la aerobiología

Los bioaerosoles son suspensiones en el aire de partículas vivas o que se han originado en organismos vivos (1). Estos bioaerosoles están constituidos por microorganismos y otros materiales biológicos (2). Entre los distintos tipos de microorganismos en suspensión que contiene el aire nos encontramos, especialmente, bacterias y hongos (3). Su presencia en el aire es el resultado de su dispersión desde un sitio de colonización o crecimiento (1).

Los bioaerosoles se caracterizan por ser ubicuos, altamente variables, complejos y pueden originarse naturalmente o por la actividad del ser humano. Son responsables del 5 al 34% de la polución del aire interior. El aire contiene un número importante de microorganismos y actúa como un medio para su transmisión y dispersión. Las vías de exposición del ser humano a los patógenos del aire son la inhalación, la oral – ingestión y la transcutánea. No obstante, la inhalación es la vía más importante (1).

Los bioaerosoles han sido asociados a condiciones de salud que van desde alergias hasta infecciones diseminadas. La importancia de los bioaerosoles ha sido destacada en las últimas décadas debido a su influencia creciente en la salud humana como consecuencia del aumento de la población susceptible, principalmente en los hospitales (4).

La Aeromicología es la rama de Aerobiología que investiga la aparición de esporas y otros componentes fúngicos en el aire interior y exterior, los cambios en sus concentraciones y los factores que afectan dichos cambios (5). El propósito de un estudio aeromicológico es verificar la posible presencia de los bioaerosoles fúngicos en el aire y su cuantificación. Estos estudios constan de dos fases: la fase de la toma de muestras y la de detección de microorganismos y sus componentes (6,7).

Existen variaciones estacionales en el tipo y número de microorganismos presentes en la atmósfera. De forma general, los hongos son más abundantes en verano que en el resto del año, mientras que las bacterias son más abundantes en primavera y otoño (8).

Los hongos que encontramos en espacios interiores son aquellos que han penetrado desde el exterior sorteando las barreras físicas que se interponen entre ambos ambientes. En interiores, la multiplicación de estos microorganismos es menor, por lo que su cantidad será inferior a la encontrada en el exterior, (9).



Los principales factores determinantes del espectro y concentración de esporas fúngicas en el aire interior son, entre otros: i) el grado de mantenimiento que reciben los sistemas de calefacción; ii) el sistema de ventilación y los sistemas de aire acondicionado; iii) los muebles y la frecuencia de la limpieza; iv) el número de personas que circula por el sitio; v) la presencia de alimentos, plantas, flores o frutas traídos del exterior; vi) la contaminación de las estructuras interiores por la antigüedad del edificio, etc. (10,11).

También se puede encontrar alguna evidencia que muestra la asociación significativa entre los niveles de bioaerosoles y algunos factores ambientales como son la humedad relativa y la temperatura (12). Dado que la mayoría de las bacterias y hongos necesitan condiciones ambientales específicas para crecer y propagarse, sus niveles están fuertemente afectados por estos factores. En algunos casos, los sistemas de calefacción, aire acondicionado o ventilación pueden provocar fluctuaciones de la temperatura y la humedad relativa, como en los museos, que pueden causar graves daños (13).

Los alimentos, las plantas de interiores y macetas, el polvo, mascotas y sus camas, textiles, alfombras, material de madera y relleno de muebles, en ocasiones, producen la liberación de varias esporas de hongos en el aire (14). Según algunos estudios, el contenido de humedad del material de construcción, la humedad relativa y la temperatura (15), las concentraciones al aire libre, las tasas de intercambio aéreo (16) y el número de personas y animales domésticos (17) afectan significativamente los niveles de bioaerosoles interiores.

Los principales géneros de hongos encontrados en el aire interior son: *Cladosporium* (*C. herbarum*, *C. cladosporioides*), *Mucor*, *Alternaria* (*A. alternata*), *Penicillium* (*P. glaucum*, *P. notatum*), *Aspergillus* (*A. glaucus*, *A. niger*, *A. versicolor*), *Rhizopus*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*; entre otros (4,5). También se han encontrado Levaduras de los géneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon* y *Saccharomyces*. Todos ellos han sido descritos como potencialmente patógenos para el ser humano (4).

Se calcula que se inhalan al día una media de diez mil microorganismos, pero el hombre posee eficaces mecanismos de defensa para evitar que invadan el aparato respiratorio. Sin embargo, el control de las enfermedades transmitidas por el aire es difícil porque los individuos que las padecen suelen, de forma inconsciente, seguir realizando sus actividades cotidianas. Además, para alguna de estas enfermedades, no se dispone de agentes terapéuticos ni vacunas eficaces (18)



1.2. Calidad del aire interior

Esta parte de la introducción resume la información que se encuentra en los documentos que sirven actualmente como referencia tanto para el conocimiento como la aplicación de las técnicas necesarias para llevar a cabo una evaluación de la calidad del aire interior (CAI) en los lugares de trabajo, concepto que se encuentra estrechamente relacionado con los conceptos de salud en el trabajo y salud ambiental.

Hay tres referencias que tratan de aportar toda la información y estrategias necesarias para controlar los riesgos sanitario-ambientales en la Comunidad de Madrid:

- El Documento acerca de la Calidad del Aire interior (2010), elaborado por el Servicio de Sanidad Ambiental de la Dirección General de Ordenación e Inspección de la Conserjería de Sanidad de la Comunidad de Madrid (19)
- La Guía de Gestión de Sanidad Ambiental en Edificios de Uso Público, emitida por el mismo Organismo en 2011 (20)
- La Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo (2012) (21).

Estas referencias abordan aspectos de calidad del ambiente interior, agua potable, legionella, seguridad química, etc. asociados al interior de los edificios urbanos públicos, como respuesta al creciente interés de las organizaciones para prevenir el riesgo de patologías en las personas que habitan y trabajan en ellos y contribuir así a su bienestar (19–21).

Recientemente, La consejería de Economía, Empleo y Hacienda, a través de la Dirección General de Industria, Energía y Minas de la Comunidad de Madrid, junto con la Fundación de la Energía de la Comunidad de Madrid y Knauf GmbH han llevado a cabo el desarrollo de una Guía de Calidad del Aire Interior (2016). En esta guía se analizan los principales contaminantes presentes en el aire y en los materiales constructivos, así como los elementos de medición, las posibles soluciones mediante sistemas de ventilación y otros aspectos normativos y legislativos.

1.2.1. Importancia de la Calidad del Aire Interior.

La calidad del aire interior comenzó a preocupar a partir de 1973 cuando, debido a la crisis energética, los esfuerzos dirigidos a la conservación de energía se concentraron en la reducción de la entrada del aire exterior a los espacios interiores, con el fin de disminuir los costes de calefacción y refrigeración de los edificios. Aunque no todos los problemas relacionados con la calidad del aire



interior son consecuencia de medidas en materia de ahorro de energía, es evidente que conforme fue generalizándose ese principio, comenzaron a aumentar las quejas sobre la calidad del aire interior.

El término aire interior suele aplicarse a ambientes de interior no industriales: edificios de oficinas, edificios públicos (colegios, hospitales, teatros, restaurantes, etc.) y viviendas particulares.

Las actividades cotidianas (educativas, laborales, sanitarias, ocio, etc.) obligan a diario a la permanencia prolongada de la población en todo tipo de edificios e instalaciones urbanas. Según la OMS, la población de las ciudades pasa entre el 80 y el 90% de su tiempo en ambientes cerrados, cuyo aire está contaminado en mayor o menor grado, lo que puede ocasionar graves problemas para la salud.

En la actualidad existen suficientes indicios de que en escuelas, hospitales, áreas de oficinas, centros comerciales, residencias de ancianos, etc., coexisten bacterias, virus, ácaros, partículas, etc; capaces de alterar la calidad del aire interior y originar efectos nocivos en la salud de las personas (19)

La U.S EPA (*Environmental Protection Agency* de EE.UU) estima que las personas sufren el 72% de la exposición a químicos cuando están en interiores, lo cual paradójicamente significa que cuando se piensa que están a salvo en casa o en la oficina, es cuando realmente se exponen a un mayor riesgo.

La calidad del aire interior en un edificio depende de una serie de variables, como la calidad del aire del exterior, el diseño del sistema de ventilación y acondicionamiento del aire, las condiciones en que opera y se mantiene este sistema, la división en compartimentos del edificio y las fuentes interiores de contaminantes y su magnitud.

En resumen, puede afirmarse que los efectos más frecuentes en la Calidad del Aire Interior son consecuencia de una ventilación inadecuada, de la contaminación generada en el interior y de la procedente del exterior.

Entre los contaminantes más habituales en el aire interior se encuentran, aparte de los procedentes del exterior, los metales, el amianto y otros materiales fibrosos, el formaldehído, el polvo doméstico y los aerosoles biológicos.

A ellos se añade una amplia variedad de microorganismos, como los hongos, las bacterias, los virus y los protozoos, de los cuales los hongos y las bacterias saprófitos son los que mejor se conocen, probablemente debido a que se dispone de la tecnología necesaria para medirlos en el aire.

Es difícil establecer con precisión en qué medida la mala calidad del aire interior puede afectar a la salud, ya que no se dispone de suficiente información con respecto a la relación entre la exposición y el efecto a las concentraciones a las



que suelen estar presentes los contaminantes. Por tanto, es necesario obtener información en condiciones de dosis elevadas (como las de las exposiciones en el entorno industrial) y extrapolarla a dosis mucho más bajas con el margen de error correspondiente.

Aunque se conocen bien los efectos de la exposición aguda a muchos contaminantes presentes en el aire, existen importantes lagunas en los datos relativos a las exposiciones a largo plazo a concentraciones bajas y a mezclas de diferentes contaminantes. Se han realizado pocos estudios concluyentes sobre este tema, tanto relativos a edificios públicos y oficinas como a viviendas particulares.

1.2.2. Biocontaminantes. Hongos y levaduras.

La exposición a agentes biológicos en los ambientes interiores es un problema emergente, debido a su frecuente implicación como uno de los cofactores que pueden explicar el aumento constante de las enfermedades respiratorias, asmáticas y alergias, en grupos de población especialmente vulnerables, como es el caso de pacientes inmunodeprimidos.

Entre estos agentes microbiológicos, el moho es uno de los más conocidos. Es en realidad un tipo de hongo, como lo son las levaduras. Hay entre 100.000 y 400.000 especies de hongos (las estimaciones varían continuamente), y unos 200 o 300 se han identificado que crecen en el interior de las casas y que podrían desarrollarse en el interior de nuestros espacios habitables. De todos ellos, entre 10 y 20 especies se podrían considerar críticos para nuestros espacios interiores.

Los hongos juegan un importante papel como organismos descomponedores, ya que su funcionamiento se basa en su capacidad de reciclar una gran parte de los desechos orgánicos, transformando materia muerta y devolviendo al medio ambiente sustancias asimilables por otros seres vivos, como plantas o animales.

Por lo tanto, los hongos son elementos importantes de la propia vida, y desde una perspectiva de calidad microbiológica del aire interior, el objetivo no es el de procurar unas condiciones de vida estériles en los espacios interiores (libres de gérmenes o condiciones no naturales para el desarrollo de la vida), sino el tratar de evitar que esporas, venenos u otros metabolitos originados en fuentes interiores de las viviendas o entornos de trabajo afecten a la propia salud de sus ocupantes.

1.2.2.1. Desarrollo de los hongos filamentosos y su distribución en aire

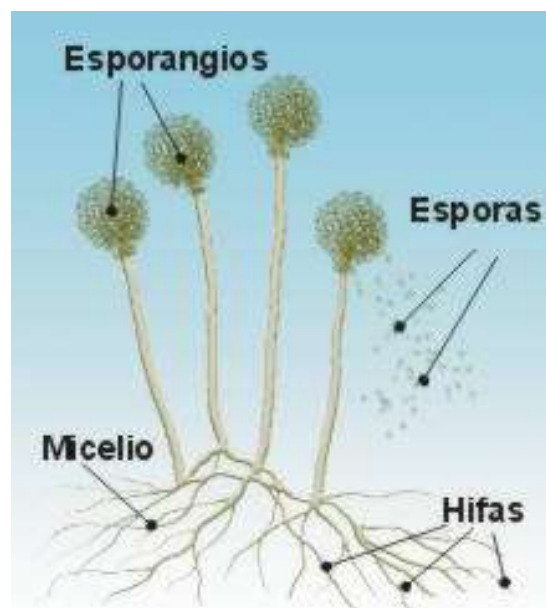
Los hongos filamentosos se originan a partir de esporas, pequeñas células que se podrían asemejar a las semillas en las plantas. Cuando las esporas



encuentran las condiciones adecuadas de humedad, temperatura, luz y nutrientes básicos esenciales, germinan. En este proceso producen hifas o micelios, que son estructuras filamentosas que constituyen la unidad estructural fundamental de la mayoría de los hongos.

Las hifas se ramifican y forman una masa algodonosa llamada micelio, que se extiende sobre el medio o superficie (las paredes de nuestras casas, las juntas entre materiales, superficies de puentes térmicos, papeles pintados, polvo doméstico, filtros de sistemas de ventilación o climatización, etc.).

Figura 1. Estructura básica de un hongo filamentoso (*Shipper, 2000*).



Los hongos producen diversos tipos de esporas, liberadas activa o pasivamente desde los esporangios, y su distribución en el aire se ve afectada por factores como: temperatura, humedad del aire, hora del día, actividad humana, tipo de ventilación (en lugares cerrados), velocidad y dirección del viento, etc. (4,22). La concentración y el tipo de esporas que están presentes en el aire son determinados por factores como el clima, las condiciones del tiempo, la accesibilidad a sustratos frescos para el desarrollo de los hongos y el ciclo circadiano de luz y oscuridad, entre otros (5). El efecto de todos estos factores es bastante complicado y difícil de estudiar.

De toda la variedad de microorganismos presentes en la atmósfera, las esporas de hongos representan el grupo más numeroso, contándose hasta cientos de miles en las muestras de aire analizadas. Les siguen en importancia numérica los granos de polen, habiéndose comprobado en algunas de todas estas partículas su capacidad alergénica. El tamaño de las esporas de hongos puede variar de 3 a 100 μm , aunque lo más frecuente es que sean menores de 20 μm (23).



Las esporas de hongos son transportadas por el aire durante todo el año; sin embargo existen importantes variaciones estacionales que afectan a su aparición y espectro. Estas variaciones estacionales dependen del tipo de clima. En los climas moderados (templados) la concentración máxima de la mayoría de las esporas ocurre en el verano o a inicios del otoño (24,25).

En las regiones tropicales y subtropicales la mayor abundancia de esporas se observa en los meses fríos – noviembre a febrero – y la menor en los cálidos – mayo a septiembre – (26,27).

Calderon et al. (1995) destacan el papel del microclima. En las zonas altamente urbanizadas, el fenómeno de una isla de calor urbano puede afectar los cambios estacionales y circadianos en la concentración de esporas aerotransportadas (28).

Las condiciones meteorológicas afectan la esporulación, dispersión y deposición de esporas y sus elementos los cuales se correlacionan entre sí. Por lo tanto, las condiciones que prevalezcan unos días antes de los muestreos influyen en las concentraciones obtenidas (29–31).

En base al factor de las condiciones del tiempo, las esporas pueden dividirse en dos grupos: las de clima húmedo y las de clima seco. Las del primer grupo aumentan sus concentraciones cuando el clima está cálido y húmedo e incluyen esporas de los géneros *Ganoderma*, *Leptosphaeria* y *Didymella*. Con respecto a la variación circadiana, la mayor concentración de las esporas de este grupo ocurrirá en la noche y en las primeras horas de la mañana cuando la humedad del aire es mayor. El clima seco y caliente favorece el desarrollo de las esporas del segundo grupo que incluye a conidias de los géneros *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria*. En este grupo, la mayor concentración diaria se dará al medio día o en las horas de la tarde, cuando se registran las mayores temperaturas y los menores valores de humedad (5). La lluvia tiende a aumentar las concentraciones globales de esporas fúngicas en el aire (11).

Algunos géneros de hongos han desarrollado una estrategia, la conidiación de microciclo (CM), para continuar produciendo y liberando conidias (espora asexual inmóvil) al ambiente aún cuando las condiciones sean desfavorables para su crecimiento. La CM es definida como la producción de conidias directamente por una espora sin que haya ocurrido crecimiento de hifas. Dicho de otra manera, consiste en reasumir la esporogénesis inmediatamente después de la germinación de la esporas. Este fenómeno ha sido observado en especies de los géneros *Aspergillus*, *Acremonium*, *Cercospora*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium* y *Trichoderma* (32).

Mientras que los hongos son delicados y se pueden eliminar de manera relativamente fácil con productos de limpieza de superficies y de alfombras o



depuradores del aire y desinfectantes especializados, las esporas, en cambio, sobreviven en condiciones muy extremas de sequedad y humedad, frío y calor, y se conservan durante años y décadas.

De esta forma vuelan por el aire, se adhieren al polvo, a las alfombras y sobre las superficies, y cuando encuentran el caldo de cultivo adecuado (a menudo basta un poco de humedad), aparecen nuevos hongos y la producción de esporas vuelve a comenzar.

Para generar una afección sanitaria, un agente biológico debe estar presente en el ambiente interior al que estemos expuestos, debe ser abundante y además pasar al aire en un estado infectivo

Se considerará, por lo tanto, que un ambiente interior tiene cualquier síntoma de contaminación microbiológica si contiene bioaerosoles que pueden causar enfermedades, irritaciones, inflamaciones, alergias, o cualquier tipo de efecto adverso derivado, entendiendo por bioaerosol a cualquier partícula transmitida por el aire que contiene en su interior contaminantes biológicos (33).

1.2.3. Estudios del aire en la Ciudad de Madrid.

Los primeros estudios sobre el contenido de esporas en el aire de Madrid fueron realizados por Canto y Jiménez Díaz (1945). Durante un año se recogieron esporas de hongos exponiendo placas de Petri con un medio de cultivo adecuado, unas en campo abierto y otras en zona de bosque, haciendo luego resiembras para observar el desarrollo de los hongos. De este modo determinaron la presencia de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Macrosporium*, *Helminthosporium* y *Stysanopsis*. La mayor frecuencia correspondía a *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Aspergillus*, presentes casi todo el año, con dos máximos en primavera y en otoño, fechas que coincidían con el aumento de casos de asma bronquial, probablemente debido a éstos.

De las esporas abundantes en Madrid se otorga un importante papel de sensibilización a las esporas de *Aspergillus*, *Penicillium* (23,34).

Subiza et al. (1983) realizaron un estudio de las esporas recogidas con el método volumétrico en el centro de Madrid. Identificaron numerosos taxones que corresponden a los principales tipos de esporas fúngicas aéreas, como *Chaetomium*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Tilletia*, *Puccinia*, *Sporobolomyces*, *Stemphylium*, *Pleospora*, *Botrytis*, *Epicoccum*, *Bovista*, *Helminthosporium*, *Torula*. Analizaron también las variaciones diarias de los más frecuentes: *Alternaria*, *Cladosporium* y *Ustilago* durante el año 1980, concluyendo que los volúmenes primaverales se prolongaban durante el verano (35).



Muñoz et al. (1988) estudiaron, con el método gravimétrico, las esporas aéreas en Madrid y su relación con las alergias de origen fúngico. Las muestras fueron recogidas durante un año sobre cajas de Petri, con los medios de cultivo habituales, situadas en dos zonas, una en el centro urbano y otra en el extrarradio. En esta segunda, tanto en el exterior como en el interior de viviendas. Se identificaron, en orden de frecuencia, colonias de: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Drechslera*, *Ulocladium*, *Acremonium*, *Stemphylium*, *Cylindrocarpon*, *Phoma*, *Monilia*, *Aphanocladium*, *Absidia* y *Rhizopus*. Un elevado porcentaje del total de los hongos aislados estuvo constituido por levaduras, hifas incoloras e hifas pigmentadas.

Relacionaron algunos datos climáticos: temperatura, velocidad del viento, humedad relativa, días de lluvia y presión atmosférica con la presencia de las esporas. Pudieron concluir la mayor influencia de la humedad relativa, seguida de las lluvias, de la presión atmosférica y en último lugar de la temperatura. En las muestras recogidas en el ambiente exterior predominaban *Cladosporium* y *Alternaria*, mientras que *Penicillium* y *Aspergillus* eran los hongos más frecuentes en los medios intradomiciliarios (36).

En 2003, Sáenz Laín y Gutiérrez Bustillo publican un estudio acerca de las esporas de hongos en el aire de la Ciudad de Madrid, financiado por la Comunidad de Madrid y realizado por la Red Palinológica de esta Comunidad. El método utilizado fue el método volumétrico por impacto continuo no selectivo (Burkard) durante el año 2000. Se realizaron recuentos diarios de esporas fúngicas, de *Alternaria* y de *Cladosporium* elegidos por su carácter alérgico (37). La estación estaba situada en la Ciudad Universitaria y genera la información aerobiológica de la zona noroeste de la capital. Encontraron una media diaria de 155,29 esporas/m³, concentración que se aproximó mucho a las 374 esporas/m³ de media diaria que obtuvo Paya Vincens en su estudio en 1981 (38). El mes de mayo fue el que mostró el pico de concentración más alto, no desapareciendo las esporas fúngicas por completo en los meses de invierno.

Cladosporium fue el género más abundante en la atmósfera suponiendo un 49% del total encontrado con una media de 172,94 esporas/m³. La fecha en la que se alcanzó mayor concentración fue el 22 de mayo. La presencia de estos conidios es constante a lo largo del año, las concentraciones mayores fueron en primavera y las menores en los meses de invierno.

Alternaria registró recuentos menores con una media diaria de 17,06 esporas/m³, representando el 5% del total. El 17 de mayo alcanzó su máximo valor. Su presencia fue constante a lo largo de todo el año pero mayo y junio fueron los meses de mayor incidencia y enero y febrero los de menor.



Además de *Cladosporium* y *Alternaria* se identificaron los siguientes tipos de esporas: *Aspergillaceae* (incluidos *Aspergillus* y *Penicillium*), *Arthrinium*, *Botrytis*, *Bovista*, *Cercospora*, *Chaetomium*, *Coprinus*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Ganoderma*, *Helminthosporium*, *Leptosphaeria*, *Myxomicetes*, *Nigrospora*, *Oidium*, *Passalora*, *Plasmopara*, *Pleospora*, *Polythrincium*, *Puccinia*, *Septonema*, *Spondilocladiella*, *Sporormiella*, *Stemphyllium*, *Tilletia*, *Torula*, *Ustilago* y *Xylariaceae*. (23)

En 2007, en un estudio realizado por Sabariego et al. llevado a cabo en la Campus Universitario de la Complutense dieron como los géneros de esporas de hongos más frecuentes: *Cladosporium* cladosporioides (30.2%), *Ustilago* (18%), *Cladosporium* herbarum (14.5%), *Coprinus* (6.9%), *Aspergillaceae* (2.1%), *Leptosphaeria* (1.7%), *Pleospora* (1.5%) and *Bovista* (1.4%). Utilizaron un muestreador volumétrico por impacto (Hirst Sopore Sampler-Burkar Scientific) con un volumen de 10l/min y que puede estar tomando muestras continuamente hasta siete días seguidos sin interrupción. El equipo contiene en su interior un tambor cubierto con una cinta de poliéster Melinex transparente impregnada con una sustancia adhesiva a la que se adhieren las partículas aerotransportadas. Durante este estudio, las más altas concentraciones de esporas se obtuvieron en primavera (abril a junio) y desde agosto a noviembre. En 2003, octubre fue el mes que alcanzó una mayor concentración de hongos, seguido de junio y mayo. En 2004 junio y mayo fueron los meses más elevados, seguidos de octubre. Los menores recuentos se obtuvieron en invierno en los meses de diciembre, enero y febrero tanto para el año 2003 como 2004.

Obtuvieron bajos recuentos para *Aspergillus* y *Penicillium* (4,2%), *Alternaria* (1,8%), *Oidium* (1%), *Botrytis* (0,8%) y *Drechslera* (0,6%) (39).

A parte de estos estudios, otro asunto a tratar sería qué idea tiene la población sobre la calidad del ambiente en espacios interiores y su percepción sobre la influencia en la salud. Dicho asunto se trató en la población madrileña y el estudio fue realizado por La Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, en conjunto con la Dirección General de Ordenación e Inspección, en 2012 (40). El método elegido fue mediante Sistema CATI (telefonía asistida por ordenador) a un total de 850 personas de la Comunidad de Madrid, mayores de 18 años.

Los resultados más relevantes fueron, entre otros:

- Casi el 80% de los madrileños dice pasar como máximo cuatro horas al aire libre durante los días laborales y hasta un 11% dice que no llega ni a una hora.



- Seis de cada diez madrileños son conscientes de que, en general, el ambiente en el interior de los espacios cerrados podría tener algún riesgo sobre su salud.
- La mitad de los madrileños que trabaja (404 casos) desarrolla su actividad laboral en una oficina. El 12,9% trabaja al aire libre y un 11,5% trabaja en sector comercio y restauración.
- Los madrileños más preocupados por la calidad ambiental en interiores y que perciben algún peligro están, sobre todo, desarrollando su actividad laboral en actividades relacionadas con la industria y en los centros sanitarios.
- En general: i) la temperatura es el aspecto que más preocupa a los trabajadores de oficinas y comercios o restauración; ii) la mala ventilación a los trabajadores de los centros sanitarios; iii) la manipulación de productos químicos a los que desarrollan su actividad en ambientes industriales y; iv) el ruido excesivo a los trabajadores de los colegios.
- La mayoría de los madrileños no asocia haber padecido ninguna dolencia o síntoma relacionado con la estancia en un lugar cerrado, pero un 21,5% sí lo relaciona.
- Los principales síntomas o molestias atribuidos a la estancia prolongada en espacios cerrados son picor de ojos, nariz, estornudos, lacrimo, molestias para respirar y dolor de cabeza. Se achacan concretamente a la ventilación insuficiente, a la temperatura y al ambiente muy seco (40).

1.2.4. Estudios del aire interior en edificios y su relación con las enfermedades profesionales.

Levetin et al., 1995, publican un estudio de la calidad del aire intramural en las escuelas de 4 ciudades de Estados Unidos, en él se demuestra la influencia de los sistemas de ventilación en la calidad del aire y la relación entre el contenido de esporas intramurales y extramurales. Aquellas escuelas ventiladas con sistemas de aire centralizados tienen un nivel de esporas interiores que representa el 4,7% del exterior y las de ventilación natural el total de esporas interiores representa el 24% del exterior. La presencia de *Cladosporium* como el taxón más identificado refleja que el contenido intramural de esporas procede del exterior. La presencia mayoritaria de taxones como *Aspergillus* y *Penicillium* sugiere la presencia de fuentes contaminantes en el interior como fuente emisora de dichos alérgenos, cosa que sucede en las escuelas con ventilación artificial (41).



El hongo *Stachybotrys chartarum* cobró notoriedad en la década de los 90 al ser relacionado con una serie de casos de hemorragia pulmonar idiopática (HPI) acontecidos en la ciudad de Cleveland, Ohio, E.E.U.U. Todos ellos afectaban a niños de muy corta edad, que residían en el mismo suburbio, en casas construidas en madera. Los estudios realizados encontraron que el único factor asociado a los casos era la presencia de *Stachybotrys chartarum* en sus casas, lo que llevó a considerar a este hongo como el más posible agente etiológico. Pero el mecanismo patógeno de este moho no era infeccioso como se pensó en un principio ya que los estudios de anatomía patológica realizados en estos casos de HPI no detectaron evidencias de este hongos en los tejidos de los niños infectados. Parece ser que la inhalación de las micotoxinas producidas por este hongo encontrado en las casas son capaces de inhibir la síntesis de proteínas, y en concreto con la síntesis de colágeno IV que forma la matriz de colágeno. Este déficit de colágeno IV en los capilares pulmonares causaría que la red vascular fuera permeable y se extravasara sangre, originando en el aparato respiratorio una hemorragia pulmonar. La detección exclusiva en niños se debía a que se encontraban en un período de crecimiento, estadio que implica una gran síntesis de proteínas, lo que les hacía más sensibles (42,43).

Crook en 1994, realizó un excelente trabajo sobre la alergia ocupacional en agricultura en el Reino Unido, donde demostró la existencia de 2000 casos de asma y alveolitis relacionadas con el puesto de trabajo. La mayoría de los pacientes están expuestos a hongos en su trabajo al manipular granos de cereales, heno, fabricación de compost para cultivo de champiñones y cuidar animales en locales confinados.

Todo material vegetal, vivo o muerto, es capaz de soportar el crecimiento de hongos actuando éstos como saprofitos, comensales o parásitos, con capacidad de desarrollar productos metabólicos tóxicos. Las personas que manejan este material en su trabajo están expuestos a un polvo de alto contenido orgánico compuesto por bacterias, virus, actinomycetes y hongos, así como a sus metabolitos que incluyen endotoxinas y micotoxinas. La inhalación de dicho polvo, sería la causa del asma ocupacional, la alveolitis alérgica y el pulmón de granjero o pneumonitis hipersensible. La diferencia fundamental entre la alveolitis alérgica y la pneumonitis hipersensible está en que la reacción de la alveolitis alérgica está mediada por las Ig E o reagentes y requiere sensibilización previa para la manifestación de los síntomas clínicos, mientras que la pneumonitis alérgica está mediada por Ig G y linfocitos-T sin necesidad previa de sensibilización (44).

Los *Aspergillus*, además de producir enfermedades relacionadas con el puesto de trabajo, ocupan el primer lugar dentro de los agentes fúngicos etiológicos de neumonía nosocomial. Por este motivo la C.D.C. (*Center for Disease Control and Prevention*) publicó en 1997 una guía para la prevención de neumonía



nosocomial por *Aspergillus*, donde indica la necesidad de realizar continuos estudios aerobiológicos a fin de conocer la presencia cualitativa y cuantitativa de dichos hongos en el aire interior de los hospitales y así poder llegar a establecer la medidas oportunas de erradicación y de prevención.

En España durante 1998 se produjo la muerte de 5 pacientes por aspergilosis invasiva, después de un tratamiento quirúrgico, al estar el quirófano contaminado por dicho hongo. *Aspergillus* es un hongo de gran importancia en el estudio de la contaminación de ambientes confinados, donde las temperaturas y los sustratos con elevada humedad, necesarios para su proliferación, diseminación y producción de micotoxinas, son las apropiadas, quedando todo ello reflejado en numerosos trabajos (44–52).

Recientemente, en septiembre del 2015, se conoció la noticia de una paciente fallecida en el recién inaugurado hospital de Vigo, afectada por *Aspergillus* spp. El hospital se encontraba aún en obras y parece que fueron éstas las causantes de la propagación del hongo en el interior del hospital, con lo que se paralizó la apertura de quirófanos y UCI por falta de seguridad en la calidad del aire (33).

El asma y la rinitis alérgica son las enfermedades respiratorias más frecuentes asociadas a la exposición a los bioaerosoles (53). En los Estados Unidos de América, alrededor del 80% de los pacientes con diagnóstico de asma reaccionan frente a alérgenos fúngicos. En el sur de Europa, la mayoría de estos cuadros son desencadenados por el género *Alternaria*; mientras que, en el norte de Europa, son principalmente desencadenados por esporas del género *Cladosporium*. Sin embargo, la lista de esporas que son capaces de producir alergias es muy larga. Las enfermedades alérgicas desencadenadas por hongos causan importante morbilidad y su respuesta a la inmunoterapia es más pobre que la respuesta de las desencadenadas por polen de plantas (5).

1.3. Normativa general acerca de la calidad del aire interior

La información para el desarrollo de este apartado ha sido obtenida de múltiples fuentes de consulta, entre las que cabe destacar dos principales:

- Guía de Calidad del Aire Interior, editada por la Dirección General de Industria, Energía y Minas de la Comunidad de Madrid (2016) (33).
- Guía de Calidad del Aire Interior, editada por el Observatorio Andaluz y Medio Ambiente de Andalucía (2011) (54)

1.3.1. Introducción

Actualmente no hay una legislación vinculante específica sobre calidad del aire interior, pero si hay una base normativa dirigida a los ambientes laborales, que



podría tomarse de referencia a la hora de establecer valores límites de exposición, emisión, ambientales, establecer tasas de renovación, etc.

Además de esta reglamentación, de obligado cumplimiento en ambientes laborales, existen una serie de Notas Técnicas de Prevención (NTPs) publicadas por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), con el propósito de facilitar herramientas técnicas de consulta a los agentes sociales y profesionales. Estos documentos no son vinculantes, ni de obligado cumplimiento, aunque pretenden ayudar al cumplimiento de tales obligaciones, facilitando la aplicación técnica de las exigencias legales. Estas notas técnicas están redactadas no sólo para servir de guía en el cumplimiento de la legislación laboral sino como recomendaciones que se pueden aplicar en ambientes no laborales, que hasta el momento carecen de una regulación específica.

A continuación, se recogen las principales reglamentaciones y normas relativas a la calidad del aire interior. Algunas de ellas se ciñen exclusivamente al ámbito laboral pero otras amplían su ámbito al resto de la población. Además, se describen otra serie de normas enfocadas a aspectos metodológicos que han de tenerse en cuenta a la hora de realizar un estudio del aire interior.

1.3.2. Legislación y normativa nacional

A continuación, se describe una selección de la normativa y legislación generales y relativas a la calidad de aire interior que el autor cree más relevante de cara a la evaluación de resultados del presente estudio.

1. **Real Decreto-Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales BOE nº 269 10/11/1995**, que tiene por objeto promover la seguridad y la salud de los trabajadores, estableciendo como principios generales: i) la prevención de los riesgos profesionales; ii) la eliminación o disminución de los riesgos derivados del trabajo y; iii) la información, la consulta, la participación equilibrada y la formación de los trabajadores en materia preventiva (55)
2. **Real Decreto 664/1997**, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Este Real Decreto establece que el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) elaborará y mantendrá actualizada una guía técnica de carácter no vinculante para facilitar la aplicación del real decreto (56)

A este respecto el INSHT, en el año 2014, publicó la *“Guía Técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relativos a la exposición a agentes biológicos durante el trabajo”*, facilitando criterios e información técnica (57)



3. **El Real Decreto 1027/2007** de 20 de Julio, por el que se aprueban el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los edificios (RITE), modificado en el BOE, el 5 de abril del 2013 (R.D.238/2013 de 5 de Abril de 2013). La IT3.3. describe los Programas de mantenimiento que han de implantarse en las instalaciones sujetas a RITE (>70 kW, independientemente de su fecha de puesta en marcha). Incluye dos operaciones de mantenimiento relativas a calidad de aire interior (58):
- Revisión de la red de conductos según criterio de la norma UNE 100012 (2005): Higienización de los sistemas de climatización. (59). Su objetivo es definir una metodología para valorar la higiene de los sistemas de climatización. Vincula la higiene del sistema de climatización a la calidad del aire interior y establece valores microbiológicos y de contenido en partículas. También define una serie de valores límites de aceptabilidad en referencia a las instalaciones de aire acondicionado y del aire que manipulan. Es decir, miden la contaminación microbiana antes y después de efectuar limpiezas en los sistemas de climatización para ver la influencia de los mismos en la flora aerobia mesófila, así como la fúngica.
 - Revisión de la calidad ambiental según criterios de la norma UNE 171330, que se explica con más detalle posteriormente.

Se trata de llevar a cabo, por tanto, dos tipos de revisiones que permiten, por una parte, asegurar que los sistemas de climatización se encuentran en correctas condiciones higiénicas según Norma UNE 100012 y, por otra, que la calidad del aire que respiran los usuarios es satisfactoria de acuerdo a los requisitos de la Norma UNE 171330. En definitiva, para instalaciones con una potencia útil superior a 70 kW existe la obligación de realizar, al menos, una revisión anual de la calidad del aire interior.

En el año 2004 se creó en AENOR un comité de trabajo específico de Calidad Ambiental en Interiores (CT171), siendo nuestro país pionero en este aspecto. En los últimos años, el comité ha desarrollado una serie de normas que tratan sobre todo del establecimiento de valores límite y las operaciones de mantenimiento preventivo. Algunas de ellas son:

4. **UNE 171330-1-2008 - Calidad ambiental en interiores. Parte 1: Diagnóstico de calidad ambiental interior.**

Tiene como objetivo ofrecer una metodología específica que permita identificar la situación de partida de un edificio en cuanto a calidad ambiental en interiores (60).



5. UNE 171330-2-2014 - Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental en interiores.

Describe las metodologías de ensayo de los diversos parámetros que se deben analizar en un edificio y los criterios de valoración aplicables.

El campo de aplicación son los ambientes interiores de todo tipo de recintos, instalaciones y edificaciones, exceptuando aquellas que se destinan "exclusivamente" a la actividad desarrollada en procesos industriales y/o agrícolas (61).

En hospitales y centros sanitarios la calidad ambiental en interiores en "áreas críticas" estará regulada por la norma UNE 171340, Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales (62).

6. UNE 171330-3-2010 - Calidad ambiental en interiores. Parte 3: Sistema de gestión de los ambientes interiores.

Se describen los requisitos para la implantación de un Sistema de Gestión de la Calidad Ambiental en Interiores. Se trata de una norma compatible con otros tipos de sistemas de gestión como podría ser un Sistema de Gestión de la Energía (ISO 50001) o un sistema de Gestión Medioambiental (ISO 14001) (63).

7. UNE 171340:2012 - Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales (62).

8. UNE 100713:2005 - Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales.

Establece las características que debe tener una instalación de acondicionamiento en hospitales, distinguiendo las necesidades de ventilación en las diferentes zonas (quirófanos, consultas, etc.), tomas de aire exterior, filtros, etc. (64).

9. UNE-EN 13098:2001- Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la medición de microorganismos y endotoxinas en suspensión en el aire.

Esta norma europea proporciona las directrices para la evaluación de la exposición a los microorganismos en la atmósfera del lugar de trabajo, incluyendo la determinación del número total y del número cultivable de microorganismos en el lugar de trabajo. La norma también proporciona los métodos de medida de endotoxinas en suspensión en el aire, en el lugar de trabajo.



Esta norma europea no se aplica a los virus ni a los microorganismos patógenos específicos ni a toxinas distintas de las endotoxinas, aunque algunos principios de medida pueden ser los mismos (65).

1.3.3. Notas técnicas de prevención (NTPs)

Durante la revisión bibliográfica y normativa se han identificado una serie de NTPs que se consideran relevantes a efectos de la presente investigación.

1. NTP 243 - Ambientes cerrados: calidad del aire (66).

Con esta Nota Técnica de Prevención sobre la calidad del aire en los ambientes cerrados se inicia el tratamiento de un problema que no sólo afecta a la población laboral, sino también al resto de la comunidad, ya que está demostrado que el hombre urbano pasa entre el 80 y el 90% de su tiempo en ambientes cerrados, contaminados en mayor o menor grado. Este problema se ha visto potenciado desde que una creciente necesidad de ahorro energético ha llevado al diseño de edificios más herméticos, con una mayor recirculación del aire y, en consecuencia, con un posible aumento de la contaminación interior.

Esta NTP clasifica a los agentes biológicos como:

- Agentes infecciosos como, por ejemplo, los hongos patógenos que contaminan los suelos y que pueden penetrar al interior de los edificios cuando son alterados por el viento u otras actividades que los pongan en suspensión.
- Toxinas. La mayor parte de las toxinas microbianas presentes en el aire de un ambiente interior están constituidas por endotoxinas bacterianas y micotoxinas (procedentes de los hongos).
- Antígenos. La mayor parte de los antígenos que pueden encontrarse en el aire de los ambientes cerrados procede de microorganismos, artrópodos o animales.

2. NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en el aire.

Esta Nota Técnica de Prevención expone la metodología correspondiente a la toma, transporte y conservación de muestras de aire para la determinación de bacterias y hongos, así como el fundamento del método analítico, su campo de aplicación y sus limitaciones.

El campo de aplicación es en lugares que, por el tipo de trabajo que se realiza en ellos, no precisan ser estériles. Se recomienda llevar a cabo el recuento de hongos y bacterias en aire cuando exista una sintomatología en



la población expuesta que sugiera una posible contaminación biológica causada por estos microorganismos. Cuando el número de *Unidades de Formación de Colonias por metro cúbico* de aire (en adelante UFC/m³) hallado sea superior a 500 se recomienda efectuar la identificación de los gérmenes existentes en el aire muestreado. En ambientes considerados estériles el número de UFC/m³ debe ser 0 (67).

3. NTP 335: Calidad del aire interior: evaluación de la presencia de polen y esporas fúngicas.

Como continuación de las anteriores NTPs referentes a la calidad de aire interior, se expone aquí el procedimiento a seguir para la evaluación en aire de polen y esporas fúngicas, cuya presencia en el mismo puede ser el origen de la aparición o aumento de los casos de alergia detectados en un ambiente interior (68).

4. NTP 488: Calidad del aire interior: identificación de hongos.

Esta Nota Técnica complementa a las anteriores dedicadas a la calidad de aire interior desde el punto de vista microbiológico y en ella se describen los principales métodos para identificar los hongos presentes en determinados ambientes (69).

5. NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización.

La mayoría de los edificios industriales, comerciales y de oficinas, cualquiera que sea su tamaño, disponen de sistemas mecánicos de suministro de aire fresco el cual puede ser filtrado, calentado, enfriado y en ocasiones humidificado.

En estos equipos se pueden dar las condiciones idóneas para el crecimiento y dispersión de los microorganismos o agentes biológicos.

La naturaleza del sistema de ventilación/climatización juega un papel preponderante en el riesgo de proliferación microbiológica, en su transferencia al ambiente y en su inhalación por parte de las personas expuestas.

El control de la contaminación microbiológica en ambientes interiores se puede conseguir con un buen diseño de los sistemas y un eficaz programa de mantenimiento de las instalaciones (70).



6. NTP 431: Caracterización de la calidad del aire en ambientes interiores

Los problemas relacionados con la calidad del aire en un ambiente interior han ido aumentando en nuestra sociedad a lo largo de los últimos años, convirtiéndose en algo relativamente frecuente. Ello se debe, principalmente, a las características de los edificios que se están construyendo, a las técnicas de construcción, a algunos de los materiales que se están utilizando y a mantenimientos defectuosos.

En esta NTP se presenta un esquema para efectuar, de forma ordenada y efectiva, una investigación básica de calidad de aire interior en un edificio. Para ello se propone un procedimiento que permite relacionar las quejas expresadas por sus ocupantes con la calidad del aire interior y, también, identificar problemas latentes que aún no se hayan manifestado. Esta NTP está dirigida a todo tipo de público, no solo a trabajadores (71).

7. NTP 607: Guías de calidad de aire interior: contaminantes químicos

Recoge valores guía de la *Environmental Protection Agency* estadounidense y de la Organización Mundial de la Salud para ciertos contaminantes químicos frecuentes en el aire interior.

Según el INSHT, las guías deberían ser aplicables a cualquier ambiente interior no ocupacional y servir de ayuda al desarrollo de regulaciones y estándares para los edificios, incluidos escuelas, hospitales y servicios en general.

Al no ser de obligado cumplimiento, estas pautas deben ser consideradas como recomendaciones y un valor guía representa un nivel de concentración que, cuando se exceda, aconseje emprender acciones para asegurar su reducción en el local o edificio afectado. Este valor debería ser considerado como un valor objetivo que asegure, en la mayoría de circunstancias y para la mayoría de individuos, la ausencia de efectos perjudiciales sobre la salud (72).

8. NTP 608: Agentes biológicos: planificación de la medición

Esta nota técnica forma parte de una serie dedicada a la medición de agentes biológicos. La necesidad de la planificación en relación a muestreos biológicos en aire parte de las dificultades que supone la aplicación de una metodología típica (identificación, medición y valoración del contaminante), que se concretan en la falta de criterios de valoración cuantitativos y en la escasa fiabilidad de los resultados debida, en parte, a la falta de caracterización de los equipos de muestreo de agentes biológicos respecto



a sus eficacias de captación y a la supervivencia de los microorganismos (73).

9. NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I)

En esta nota técnica de prevención, que forma parte de la serie dedicada a la medición de agentes biológicos, se describen los requisitos que deben cumplir los distintos equipos de toma de muestras de agentes biológicos. Asimismo, se describen los diferentes principios de captación de partículas y las principales características de los equipos de muestreo más frecuentemente utilizados (74).

10. NTP 610: Agentes biológicos: equipos de muestreo (II)

En esta nota técnica, continuación de la NTP 609, se describen los aspectos fundamentales de los métodos de toma de muestras señalando, para cada tipo de muestreador, el agente biológico para el que está indicado, el tipo de análisis y las ventajas y limitaciones del método (75).

11. NTP 611: Agentes biológicos: análisis de las muestras

En esta nota técnica, que forma parte de la serie dedicada a la medición de agentes biológicos, se describen los principales ensayos analíticos aplicables a los diferentes tipos de agentes biológicos (76).

12. NTP 1064: Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (I): estrategia de muestreo.

Esta Nota Técnica de Prevención (NTP) se compone de dos partes y se centra en el muestreo de contaminantes biológicos como parte del proceso de investigación de problemas de calidad del aire interior.

En la primera parte se abordan una serie de consideraciones a tener en cuenta a la hora de llevar a cabo dicha investigación. En la segunda parte se describen las principales técnicas y equipos de muestreo existentes para la identificación y/o determinación de dichos contaminantes.

Esta NTP supone una actualización y una ampliación de los contenidos de diversas NTP relacionadas con este tema (77).

13. NTP 1065: Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II). Tipos de muestreo.

Esta NTP es una continuación de la NTP 1064 y ofrece una descripción de las técnicas de muestreo a emplear para la determinación de contaminantes biológicos en el marco de la investigación de problemas asociados a la



calidad del aire interior, así como de las características principales de los equipos de muestreo más utilizados para tal fin (78).

1.3.4. Iniciativas privadas, programas y proyectos internacionales / europeos

1. En EEUU la **Asociación de Ingenieros de Climatización ASHRAE (*American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers*)**, publica guías y normas que, sin ser legalmente de obligado cumplimiento, en la práctica son utilizadas por los técnicos y consideradas como referencia con validez legal en caso de litigios en este país. Establece varias directrices y estándares relacionados con una calidad aceptable del aire interior en edificios residenciales (79)

2. **WHO's Programme on Indoor Air Pollution – OMS**

A nivel internacional, la OMS (Organización Mundial de la Salud) considera desde hace muchos años la calidad del aire interior como una de las preocupaciones emergentes en salud pública y ha generado diversos documentos que establecen valores guía de diversos compuestos habitualmente presentes en los espacios cerrados. “*WHO guideline for indoor air quality: selected pollutants*” (80)

3. **Health Canada - Indoor Air Quality**

Programa de la Agencia de Salud de Canadá, orientado a la población general, con información de los principales contaminantes del aire interior, fuentes, control y mejora de la calidad. En Canadá se han publicado guías, como “*Indoor Air Quality in Buildings: A Technical Guide*”, con consejos acerca de los contaminantes específicos de interiores (81).

4. En Francia hay un organismo **Observatoire de la Qualité de l’Air Interieure (Observatorio de la Calidad del Aire Interior)** dependiente del Ministerio de la Salud que publica referencias documentales y guías.

5. **El Instituto Robert-Sauvé para la Investigación en Salud y Seguridad Laboral (IRSST)**, es uno de los principales centros de investigación en Salud y Seguridad del trabajo en Canadá, que realiza y financia actividades de investigación dirigidas a eliminar riesgos para la salud y seguridad de los trabajadores y promover la rehabilitación de los trabajadores.

Tiene publicada una guía en su web: “*Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide*”. Esta guía, describe el enfoque recomendado por el IRSST para la evaluación, control y prevención de la exposición a bioaerosoles (82).



6. El Instituto Español de Baubiologie es una organización sin ánimo de lucro que busca el establecimiento de los principios de la bioconstrucción acordes con un hábitat respetado. Son la delegación en España del *Institut für Baubiologie & Oekologie Neubeuern (IBN)* (83).

Una de las especializaciones más relevantes de la baubiologie es el análisis y medición de los factores de riesgos físicos, químicos y biológicos existentes en el interior de nuestros edificios que pueden poner en riesgo la salud de los habitantes del edificio.

Para ello, el IBN publica su propia normativa y actualmente tienen vigente la Norma IBN SBM-2015 en bioconstrucción, que presenta estándares para la Bioconstrucción relativos a unos índices de requisitos mínimos que deberían de cumplir todas las edificaciones. Además, ofrece valores indicativos para la medición total de mohos por m³ de aire interior, en comparación a muestras de referencia exterior, y/o de estancias no contaminadas (33).

1.3.5. Normativa aplicable a las clínicas podológicas a efectos de comparación de resultados.

El problema a la hora de aplicar una normativa a las clínicas de podología surge al intentar clasificar estos centros dentro de una regulación sanitaria específica. La actividad de podología (como unidad asistencial) está claramente definida dentro del Real Decreto 1277/2003 (por el que se establecen las bases generales sobre autorización de centros, servicios y establecimientos sanitarios). No obstante, no hay una definición clara de lo que son las consultas o clínicas de podología y en qué tipo de centro o establecimiento sanitario habría que incluirla (84).

El R.D 1277/2003 en su apartado definiciones y en su Anexo 2 – Definiciones de centros, unidades asistenciales y establecimientos sanitarios – incluye las siguientes descripciones:

- i) Centro sanitario: Es el conjunto organizado de medios técnicos e instalaciones en el que profesionales capacitados, por su titulación oficial o habilitación profesional, realizan básicamente actividades sanitarias¹ con el fin de mejorar la salud de las personas. Los centros sanitarios

¹ Se entiende por actividad sanitaria, el conjunto de acciones de promoción, prevención, diagnóstico, tratamiento o rehabilitación, dirigidas a fomentar, restaurar o mejorar la salud de las personas realizadas por profesionales sanitarios.



pueden estar integrados por uno o varios servicios sanitarios², que constituyen su oferta asistencial.

- ii) Consultas de otros profesionales sanitarios (C.2.2): centros sanitarios donde un profesional sanitario (diferente de médico u odontólogo) realiza actividades sanitarias. También se consideran consultas, aunque haya más de un profesional sanitario cuando la atención se centra fundamentalmente en uno de ellos y los restantes actúan de apoyo a éste.

Según dicho R.D la podología podría clasificarse bajo el epígrafe C.2.2 (Consulta de otros profesionales sanitarios) y bajo la unidad asistencial U.4 (Podología).

En el R.D 1277/2003 el sector sanitario dental, actividad que se puede considerar semejante a la podología en cuanto a tipología y características del establecimiento donde se lleva a cabo el servicio sanitario, sí dispone de su propia clasificación de centro sanitario, catalogado como C.2.5.1 ("Clínicas dentales"). No obstante, el sector podológico carece de una definición específica de "Clínica podológica".

En cualquier caso, el problema de la contaminación ambiental por hongos en centros sanitarios está particularmente enfocada a los hospitales (centros sanitarios con internamiento) y no se han encontrado referencias específicas a aplicar, en cuanto a ambientes de interiores, para las clínicas de podología.

Volviendo a la analogía entre el sector dental y podológico (en relación al centro sanitario donde se desarrolla la actividad sanitaria), para el primero, sí que existen determinadas referencias que recomiendan tener en cuenta el control microbiológico ambiental en las consultas.

Un ejemplo sería la guía publicada en 2010 por la Comunidad de Madrid y titulada "Prevención y control de enfermedades transmisibles. Recomendaciones en odontoestomatología" (85). En el apartado 3.4 de esta guía se habla acerca del Control ambiental del aire en las clínicas de odontología y de cómo los hongos ambientales se pueden aislar en los conductos de aire acondicionado. También habla acerca de las medidas higiénicas a adoptar para evitar una proliferación de los microorganismos:

- Mantenimiento del sistema de climatización.

² Se entiende por servicio sanitario la unidad asistencial, con organización diferenciada, dotada de los recursos técnicos y de los profesionales capacitados, por su titulación y/o habilitación profesional para realizar actividades específicas.



- Limpieza de rejillas cada vez que se limpien las paredes y recomendación de desmontar y limpiar en profundidad cada seis meses;
- Mantenimiento de los filtros: verificación mensual y sustitución de los mismos cada dos años como mínimo.
- Medidas higiénicas complementarias:
 - Limpieza de superficies
 - Evitar desconchones en paredes o suelos
 - Vestimenta adecuada del personal
 - Mantenimiento de puertas cerradas

La guía también recomienda que la medición de la contaminación microbiana es un buen complemento al mantenimiento higiénico de las instalaciones, ya que permite detectar posibles aumentos de los niveles fúngicos y/o bacterianos debidos a sistemas de ventilación, reservorios ambientales o déficit higiénicos. También indica que la mejor forma de racionalizar la desinfección es realizar controles microbiológicos regulares, controlando y/o evitando la aparición de focos de riesgo (85).

Otro documento que recoge recomendaciones para la monitorización de la calidad microbiológica del aire en zonas hospitalarias de riesgo, es el emitido por la Sociedad Andaluza Española de Medicina y Salud Pública en el año 2014 (86).

Este documento añade en sus anexos una clasificación de las distintas zonas hospitalarias y la propuesta del DTIE-1.06.201³ en cuanto a los valores de los parámetros ambientales, que opinan, serían los adecuados para cada una de las áreas. Una de las zonas que forman parte de la clasificación corresponde a los Centros de día y Consultas Externas. Para estas zonas, el DTIE recomienda la aplicación de la NORMA UNE 171330-2:2014 en cuanto a los valores para la Biocontaminación (UFC/m³) (86,87).

Por lo tanto, ante la ausencia de normativa específica aplicable y de acuerdo a la revisión bibliográfica y normativa realizada, se considera que los criterios y valores límite incluidos en la norma UNE 171330-2:2014 podrían ser acordes al

³ Documentos Técnicos de Instalación en la Edificación. Publica la Asociación Técnica Española de Climatización y Refrigeración (ATECYR).



tipo de centro sanitario para las Consultas de podología, donde no se precisan condiciones completamente estériles por el tipo de actividad que se realiza.

1.3.6. Criterios de valoración para la interpretación de resultados

La evaluación de la posible presencia de un contaminante en el medio implica, en la mayor parte de los casos, la aplicación de una metodología consistente en:

- i) Identificación del contaminante, de sus focos de contaminación, del proceso productivo que lo ha originado, de sus características toxicológicas, etc. Es decir, consiste en la recogida de toda aquella información que ayude a conocer la situación de riesgo.
- ii) La medición del contaminante, que permitirá determinar cuáles son las concentraciones o niveles del agente en el ambiente de trabajo.
- iii) Valoración de la situación. Se trata de contar con unos criterios de valoración que permitan la comparación de los resultados de la medición con estos criterios. De esta forma se podrá emitir un juicio sobre la situación para poder decir si esta es segura o peligrosa.

Tras esta valoración y en función de su resultado, se concretan si es necesario adoptar medidas preventivas y/o correctoras. Sin embargo, la aplicación de esta metodología se complica en el caso de agentes biológicos y bioaerosoles por las siguientes razones:

- En muchas actividades se desconoce el agente patógeno causante de la exposición.
- Falta de homologación y validación de los métodos disponibles tanto para la toma de muestras como para la detección y análisis de los distintos componentes del bioaerosol.
- No hay establecidos criterios de valoración numéricos para los contaminantes biológicos semejantes a los que hay establecidos para la exposición a agentes químicos.

La Guía Técnica para la Evaluación y Prevención de los Riesgos Relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos (57) y la publicación “*TLVs® and BEIs® Valores Límite Umbral para sustancias químicas e Índices de Exposición Biológica*”, de la AGGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) exponen los motivos por los que no existen valores límite de exposición (88):

- Los microorganismos cultivables y partículas biológicas contables no constituyen una sola entidad, es decir, los bioaerosoles en los lugares de



trabajo son generalmente mezclas complejas de muy distintas partículas microbianas, de animales y plantas.

- La respuesta de los seres humanos a los bioaerosoles puede variar desde efectos inocuos a enfermedades graves, incluso mortales, dependiendo del constituyente de que se trate y de la susceptibilidad de los trabajadores hacia él. Por lo tanto, un límite de exposición adecuado para un aerosol determinado puede ser completamente inadecuado para otro.
- No es posible obtener y evaluar todos los componentes de un bioaerosol utilizando un único método de muestreo. Hay muchos métodos fiables para obtener y analizar los constituyentes de los bioaerosoles. Sin embargo, métodos diferentes de toma de muestras y análisis pueden dar lugar a estimaciones diferentes en la concentración de bioaerosoles cultivables o contables.
- En la actualidad, la información que asocia concentración de bioaerosoles cultivables y contables con los efectos para la salud es, en general, insuficiente para describir las relaciones exposición-respuesta.

Esta ausencia de criterios numéricos de valoración hace que la interpretación de los resultados de la evaluación ambiental de bioaerosoles sea compleja.

Por lo tanto, en el presente estudio no se tratará de establecer valores límite sino de buscar elementos de referencia con los que poder comparar los resultados obtenidos a través de:

- i) La comparativa de las muestras del ambiente interior de las clínicas o ambiente “a evaluar” con las muestras tomadas en el exterior, que es considerado en el presente estudio como ambiente “control”.
- ii) Comparación de los resultados obtenidos en el interior a lo largo de la operación normal de la clínica: antes de comenzar la actividad, durante la actividad y al final la actividad.
- iii) Comparación estacional: tanto del interior como del exterior de las clínicas entre las estaciones de primavera y verano.

Para la comparación de los resultados obtenidos en el ambiente, actividad u operaciones “a evaluar”, con los obtenidos en el ambiente de referencia seleccionado “control”, se pueden considerar los siguientes criterios:

- Relaciones cuantitativas existentes entre el ambiente “a evaluar” y el ambiente “control”. Diferencias significativas pueden indicar la existencia



de focos de contaminación y posibles amplificaciones y, en consecuencia, posibles exposiciones.

- Los tipos y frecuencias relativas de los agentes biológicos en el ambiente “a evaluar” y el ambiente “control”. Diferencias en la composición de los bioaerosoles indican posibles amplificaciones. Se procederá a la identificación de las especies. La peligrosidad del agente proporciona información importante para determinar si la situación es anormal o peligrosa.

Algunos organismos sugieren valores de referencia para la concentración de agentes biológicos en diferentes ambientes (industriales y no industriales). Estos valores no son en ningún caso “límites de exposición profesional”, sino una concentración ambiental a partir de la cual se considera que se deben investigar las causas de la contaminación, su corrección y, si es necesario, la adopción de medidas preventivas. Entre algunas de estas propuestas encontramos:

Interpretación de los resultados obtenidos sobre hongos en estudios de calidad de aire interior efectuada por Health Canada (1995).(81).

- La flora fúngica en el aire interior, en edificios con sistema de climatización, es cuantitativamente inferior a la del aire exterior pero cualitativamente similar.
- La presencia, en un porcentaje significativo, de una o más especies de hongos en el aire interior, pero que no se hallan de forma similar en el aire exterior, demuestra la existencia de una amplificación fúngica en el edificio.
- No se debe detectar la presencia en niveles significativos de ciertos hongos patógenos como *Histoplasma* y *Cryptococcus* en el aire interior.
- La presencia continuada, confirmada tras repetidos muestreos, de hongos toxigénicos como *Stachybotrys atra*, y especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* en concentraciones significativas indica que se deben realizar más estudios y adoptar las acciones necesarias.

Además, este mismo organismo también propone un criterio numérico para la interpretación de los resultados. Las recomendaciones y criterios numéricos expuestos a continuación se basan en los resultados obtenidos en estudios realizados en más de 110 edificios gubernamentales de Canadá y en más de 3.000 muestras tomadas con el mismo tipo de equipo y bajo las mismas condiciones de muestreo.



- Una concentración superior a 50 UFC/m³ de una especie (que no sea *Cladosporium* o *Alternaria*) podría ser motivo de preocupación, por lo que se deberían realizar más estudios.
- Valores de hasta 150 UFC/m³ son aceptables siempre que la mezcla de especies observada en el interior sea similar a las especies del aire exterior.
- Asimismo, valores hasta 500 UFC/m³ son aceptables en los meses de verano, siempre que las especies mayoritarias sean principalmente *Cladosporium* spp. u otros hongos procedentes de árboles o de hojas. Valores superiores indican la falta de filtros o la contaminación del edificio.

Tales valores numéricos se basan en muestras de aire de cuatro minutos recogidas con un muestreador centrífugo Reuter. Debe destacarse el hecho de que los valores de esta referencia no pueden trasladarse a otros procedimientos de muestreo, a otros tipos de edificios o a otras regiones climáticas o geográficas.

En el Capítulo 44 de la Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Calidad del Aire Interior describe, en la parte de Contaminación Biológica, una serie directrices que se pueden tener en cuenta a la hora de hacer una valoración de la carga fúngica del aire interior obtenida en un estudio. Estas directrices también se basan en los criterios anteriormente expuestos por Health Canadá, así que se cita a continuación uno de los criterios que no están mencionados y que se considera importante para este estudio.

“Se ha observado que la carga microbiana de transmisión aérea en los edificios con sistemas de aire acondicionado deben ser claramente inferiores a las presentes en el aire atmosférico, mientras que las diferencias entre los edificios con ventilación natural y el aire atmosférico son menores”.

Otra de las Guías de referencia: La Guía de Exposición a Bioaerosoles en el lugar de Trabajo: Evaluación, control y prevención (2001) elaborada por la agencia de investigación Científica, IRRST (Research Institute Robert Sauvé) propone que hay que tomar medidas de actuación en las siguientes situaciones (82):

- Crecimiento visible en una superficie;
- Percepción característica del olor;
- Concentración interior de mohos > concentración de fondo en el aire que se ha tomado como referencia;



- Aparición de diferentes especies en el sitio de referencia y en el lugar evaluado.

En un estudio realizado por Gómez de Ana et al. (2006), del aire interior en 22 casas de pacientes con alergia a hongos, menciona los valores establecidos por The Commission of the European Community (1994) (89,90):

- Por debajo de 500 UFC/m³ sería considerado un nivel bajo;
- Entre 500 and 999 UFC/m³ sería un nivel intermedio;
- Por encima de 1000 UFC/m³ sería un nivel alto.

Estos valores concuerdan con la NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire que dice que cuando el nº de UFC/m³ hallado sea superior a 500 se recomienda efectuar la identificación de los gérmenes existentes en el aire muestreado.

Por lo tanto, de acuerdo a la revisión bibliográfica y normativa realizada y según lo expuesto en este apartado y el precedente, ante la ausencia de normativa específica y valores límite aplicables se considera que, para el presente estudio y dentro del contexto normativo nacional, los criterios de valoración incluidos en la norma UNE 171330-2:2014⁴ podrían ser propuestos a efectos de comparación de resultados.

Cabe señalar que estos límites no son vinculantes, ni tienen validez legal, y solamente se utilizarán a efectos meramente comparativos, con objeto de evaluar si las clínicas analizadas presentan una carga fúngica dentro de unos límites “aceptables”, como centros que no precisan de ambientes completamente estériles.

Las **Tablas 1 y 2** presentan los criterios de valoración para hongos en suspensión descritos en la norma UNE171330-2:2014.

⁴ Calidad ambiental en interiores, Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior



Tabla 1. Método de análisis y criterio de valoración para bacterias y hongos. NORMA UNE 171330-2:2014

PARAMETRO	METODO	Criterios de valoración		
		Criterio Confort Se acepta hasta un 25% de superaciones)	Criterio Valor límite máximo	Norma/reglamento de referencia
Bacterias y hongos en suspensión	SAS* (por impactación)	Bacterias< 600 ufc/m3 Hongos < 200 ufc/m3	No aplica	No aplica
		Cuando se superen estos valores se deben tener en cuenta los valores exteriores según la tabla 2		

* SAS: Surface Air Systems

En el caso de que la concentración interior obtenida exceda los criterios de valoración indicados (hongos < 200 UFC/m³) será necesario evaluar la carga fúngica en relación a la existente en el exterior.

Tabla 2. Relación interior-exterior cuando no se pueda aplicar la tabla 1.

Relación Interior / Exterior	Bacterias	Hongos
Exterior	1	1
Interior	< 1,75	< 0,75

Cabe mencionar que los criterios de valoración descritos en las Tablas 2 y 3 son simplemente indicativos, ya que la definición de valores límite umbral aceptables debe basarse en investigaciones extensas de una determinada tipología de edificios, en una región geográfica concreta y utilizando procedimientos bien definidos.

1.4. La podología como profesión de riesgo ocupacional

Los podólogos, dentro de su práctica habitual, realizan operaciones de fresado o reducción de la lámina ungueal con fresas rotativas que giran a elevadas velocidades. Este fresado de las uñas crea finas partículas en suspensión (aerosoles biológicos) que pueden ser inhaladas por los profesionales. En el caso de las partículas más pequeñas, este polvo en suspensión puede llegar a mantenerse en el aire hasta 10 horas después de una sesión clínica (91,92).

El estudio publicado por Abramson & Wilton en 1984 demostró que la reducción de uñas hiperqueratósicas infectadas por hongos produce un polvo potencialmente incontrolado y peligroso. Estos bioaerosoles están compuestos por queratina, hidrolizados de queratina, hongos, artrosporas fúngicas y filamentos junto con otros residuos microbianos. Estudios de la morfología y tamaño de partícula de este polvo de uña mostraron que las partículas tienen



forma plana, lo que potencialmente las permite mantenerse en suspensión en el aire durante tiempos prolongados.

El diámetro del polvo de uña oscila entre 0,1 y 100 μm . Esta variación extrema sugiere que las partículas se pueden depositar en todos y cada uno de los niveles del tracto respiratorio y potencialmente ser la causa de serios problemas respiratorios. El hallazgo más relevante del estudio de Abramson & Wilton (1984) es que el 86% del polvo producido presentaba un diámetros de partícula entre 0,8 y 1,6 μm , siendo capaz de alcanzar los bronquiolos y alveolos en caso de inhalación. Estos hallazgos han sido confirmados por otros estudios similares (93).

El polvo de uña ha sido clasificado como un alérgeno Tipo I, rico en endotoxinas y especies fúngicas, tales como el *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* (94,95).

Los profesionales sanitarios representan un colectivo con un riesgo creciente de contraer enfermedades infecciosas debido a la exposición a bioaerosoles dentro de su ambiente laboral (96) y, en concreto, el sector de la podología ha sido mencionado anteriormente por Lacey & Crook, en su revisión de 1988 que trata de las enfermedades ocupacionales que pueden desarrollar asma debido a la exposición a hongos en su entorno laboral. La especie implicada en el desarrollo de la práctica podológica sería *Trichophyton rubrum*, basándose en el artículo publicado por Pepys en 1986 (97).

No obstante, dentro del sector sanitario, la exposición laboral en la práctica podológica ha recibido poca atención (98,99).

1.4.1. Onicomycosis

La onicomycosis es una denominación utilizada para describir la infección por hongos de una o más unidades de uñas y puede ser causada por dermatofitos, levaduras o mohos no dermatofitos (100).

Se estima que las onicomycosis afecta entre un 2% y un 13% de la población de Norte de América y Europa (101–107) y aproximadamente un 5% de la población mundial (108). La onicomycosis también representa del 20 al 40% de las onicopatías y alrededor del 30 % de las infecciones micóticas cutáneas (109).

Las uñas de los pies son aproximadamente 25 veces más propensas que las de las manos a infectarse. El dedo más largo, ya sea el primero o el segundo, que soporta el peso de la presión y el traumatismo del calzado, es particularmente susceptible a la invasión, aunque es corriente que la infección se de en varias uñas a la vez (110).



Cabe señalar que no todas las uñas que muestran anomalías exhiben onicomycosis. De hecho, sólo alrededor del 50 por ciento de las uñas anómalas presentan onicomycosis documentada (102).

Seebacher y sus colaboradores en su extensa revisión sobre epidemiología relacionada con infecciones por dermatofitos, señalan que la prevalencia del *Trichophyton rubrum* tras la Segunda Guerra Mundial podría deberse a la extensa urbanización y concentración poblacional en las ciudades, que a su vez, conlleva la centralización de las actividades deportivas (111).

La variedad de microorganismos aislados de las uñas infectadas es amplia e incluye hongos, levaduras y diferentes tipos de bacterias. Algunos de estos microorganismos, como *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Staphylococcus aureus*, causan enfermedades graves una vez penetran en el organismo (112). Curtis y sus colaboradores (113) sugieren que las personas que están expuestas a mohos presentan una amplia gama de problemas de salud, siendo los más comunes fatiga, problemas musculares / articulares, rinitis, sinusitis, disfunción neurocognitiva y problemas respiratorios.

Las especies de *Trichophyton* desempeñan un papel importante en las infecciones por dermatofitos, tanto de los pies como de la piel. En Norteamérica, *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* son los patógenos más frecuentes asociados con la onicomycosis (114). En países con climas cálidos y otras regiones geográficas, pueden estar involucradas diferentes especies; sin embargo, el *Trichophyton rubrum* sigue siendo una de las especies aisladas más frecuentes. Por ejemplo, en Libia, las levaduras del género *Candida* son la causa dominante de onicomycosis en las mujeres, siendo *Trichophyton rubrum*, *T. violaceum*, *T. mentagrophytes* y *Microsporum canis* responsables de la mayoría de las infecciones en los hombres (115).

También se han comunicado observaciones similares de Pakistán (116). La mayor incidencia de la infección por dermatofitos entre hombres en comparación con las mujeres está bien documentada. Por ejemplo, en España la prevalencia de Tinea unguium y Tinea pedis en los hombres fue del 4%, frente al 1,7% de las mujeres (117). En ese estudio, *Trichophyton rubrum* fue el agente etiológico más común asociado con ambas afecciones. El aumento de la infección por dermatofitos en los hombres también ha sido reportado en una encuesta realizada entre varios centros de Norteamérica, así como entre sujetos atópicos y no atópicos de Venezuela y entre sujetos diabéticos en Canadá (118,119). Por lo tanto, la propensión de los hombres a desarrollar dermatofitosis parece ser un fenómeno generalizado.



1.4.2. Diagnóstico de la onicomicosis

Los organismos dermatofitos asociados con la onicomicosis invaden la placa ungueal, así como la superficie de la uña misma, causando frecuentemente coloración amarillenta / marrón, formación de crestas y engrosamiento (hiperqueratosis). La onicomicosis se ha clasificado en cuatro formas distintas: subungueal distal, subungueal proximal, superficial blanca e infecciones de Candida (120).

La onicomicosis subungueal distal es la más común, siendo el *Trichophyton rubrum* la causa primaria. Esta infección se caracteriza por la invasión de la porción más distal del lecho ungueal, que luego migra hacia el proximal. Finalmente, la uña puede separarse del lecho ungueal (onicolisis), permitiendo la infección secundaria por bacterias y otros mohos. La onicomicosis subungueal proximal es poco frecuente en la población general pero es común en los pacientes con SIDA. En esta infección, el organismo invade la placa de uña recién formada, causando una decoloración blanquecina de la uña (leuconchia), que migra distalmente. La onicomicosis superficial blanca es menos común que la onicomicosis subungueal distal y resulta de la infección en las capas superficiales de la placa ungueal en lugar de en el lecho ungueal. Las infecciones de las uñas de Candida pueden confundirse con otras onicomicosis, ya que pueden presentarse de manera similar. Sin embargo, la infección comienza en las estructuras que rodean la uña antes de la invasión de la placa ungueal (121).

Los criterios para el diagnóstico de las onicomicosis por dermatofitos incluyen tanto una serie de manifestaciones clínicas como resultados analíticos de laboratorio. Los rasgos clínicos se resumen en la **tabla 3** (122).

Tabla 3. Factores de diagnóstico de la onicomicosis causada por dermatofitos

Clínicos
Criterios primarios
Coloración amarillenta / blanquecina o rayas y/o parches marrones o anaranjados
Criterios secundarios*
Onicolisis (separación de la uña del lecho ungueal)
Hiperqueratosis subungueal
Engrosamiento de la placa de uña
Laboratorio
Evidencia microscópica positiva
Cultivos viables de dermatofitos

* Tinea pedis a menudo ocurre concurrentemente con onicomicosis de pedal, y tinea manuum con uñas infectadas.

Aunque a la hora de abordar el diagnóstico de las onicomicosis hay que tener presente que hay otra serie de hongos no dermatofíticos que también



colonizan las láminas ungueales (*Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Onychocola*, and *Scopulariopsis*) así como algunas levaduras (*Cándida albicans*) (122).

1.4.3. *Trichophyton*: Un alérgeno intrínseco

Los alérgenos son proteínas de bajo peso molecular o glicoproteínas que inducen anticuerpos IgE (Inmunoglobulina E) en humanos (121). La capacidad de los componentes de *Trichophyton* para unirse a la IgE ha sido demostrada usando una variedad de técnicas (123).

Una proporción significativa de individuos que están sensibilizados a *Trichophyton* no muestran evidencia de sensibilización a otros alérgenos, incluyendo hongos, según se juzga mediante pruebas de punción cutánea (124).

La monosensibilidad a *Trichophyton* puede ser una característica del asma que se presenta en la vida adulta. Este tipo de asma puede ser severo (es decir, dependiente de esteroides) y a menudo se dice que es "intrínseco" ya que puede no estar asociado con un historial personal o familiar de alergia a alérgenos inhalados.

Se cree que el asma intrínseco surge de la colonización de la piel o superficies mucosas por patógenos fúngicos (*Aspergillus* o *Candida spp.*). Sin embargo, los intentos de cultivar *Trichophyton* de las fosas nasales han dado resultados negativos (125). Woodfolk J, en su artículo "Allergy and dermatophytes" indica que la vía de exposición más probable es la absorción de antígenos dermatofitos a través de la piel, posiblemente a través de defectos de la barrera epidérmica.

Sin embargo, existen evidencias de que la exposición por inhalación también puede ocurrir. Los profesionales de podología pueden estar expuestos a bioaerosoles de polvo de uña proveniente de operaciones de reducción ungueal de uñas infectadas con hongos dermatofitos. Se ha reportado una alta prevalencia de niveles elevados de IgE Ab (31% de los sujetos) y sensibilización a *Trichophyton* (16,5%) entre podólogos, aunque la relación con los síntomas alérgicos no está clara (126–128).

1.4.4. Sistemas de aspiración en equipos de podología

Hay dos tipos de sistemas de aspiración habituales diseñados para intentar minimizar y captar el polvo de uña generado durante las operaciones de fresado y reducción ungueal :

- i) sistemas de aspiración al vacío, en los cuales el polvo es absorbido por succión y se recoge en una bolsa acoplada al aspirador. Este sistema, a su vez, tiene dos variantes. Una de ellas con el cabezal y conducto de aspiración unido a la pieza de mano, junto a la fresa, como punto de



emisión de polvo y otra con un brazo articulado de adaptación libre con el cabezal en forma de embudo, que puede ubicarse en la posición deseada durante las operaciones de fresado;

- ii) sistemas de spray de agua, que abate el polvo de uña pulverizando un chorro de agua durante el fresado de la lámina ungueal.

Algunos estudios han tratado de evaluar la efectividad de eliminación del polvo de uña de estos sistemas. Pugh y sus colaboradores fueron pioneros en mostrar dicho polvo es atraído por el sistema de aspiración tipo “Suda” acoplado, en este caso, a la pieza de mano (129).

Un estudio llevado a cabo por Davies & Savage en 1980 estableció que la mayoría de los equipos para el fresado de las láminas ungueales tienen incorporados sistemas para la extracción del polvo de uña. No obstante, no todo el polvo generado es retirado o extraído fuera del área de respiración del podólogo o del paciente. El estudio también mostró que las partículas de mayor tamaño caen al suelo, mientras que las de menor tamaño, al no ser recogidas por el extractor, quedan suspendidas en el aire por lo que podrían ser fácilmente inhaladas (130).

Harvey, en 1993, comparó dos tipos de extractores habituales en los equipos de fresado: extracción por vacío (aspiración) y por spray de agua. En la investigación, se ensayaron diferentes modelos para evaluar su capacidad para captar o extraer el polvo de uña y se determinó una efectividad variable, en un rango entre el 24% y 91,6%. Esto sugiere que, aunque el extractor reduce la cantidad de polvo en el área más inmediata, las partículas no recogidas por el extractor, quedan suspendidas en el aire, por lo que podrían ser fácilmente inhaladas. Finalmente establece que el sistema de extracción por spray de agua es, aparentemente, más efectivo que los sistemas de extracción al vacío/aspiración. El estudio presenta diversas limitaciones, una de las más importantes es que no se controló, entre otros motivos que describe el autor, el tamaño de partícula capaz de ser absorbida por los diferentes sistemas, por lo que no es del todo concluyente (131).

Harvey y otros autores (Blair et al. 1999) también han puesto de manifiesto que hay variables que influyen en el tamaño de la partícula emitida como la forma de la fresa y la velocidad a la que se utilice y que, por lo tanto, en la manera en la que este polvo puede ser captado por los diferentes sistemas (132).

1.5. Antecedentes de sintomatología alérgica entre el colectivo podólogo

En 1972 Pugh y Skone fueron de los primeros en sugerir que se debía reflexionar acerca de la posibilidad de que el polvo de uña generado durante la práctica podológica fuera un alérgeno para el pulmón, y demostraron que



mediante la utilización de un extractor de succión acoplado a la fresa, se capta parte del polvo. English (1972) también consideró que el polvo de uña podría suponer un problema dentro del entorno clínico, en el sentido en que al depositarse sobre sitios expuestos de la clínica, podría actuar como reservorios de infección (129).

La hipersensibilidad alérgica fúngica al polvo de uña manifestada por episodios de conjuntivitis, eczema de los párpados, rinitis y asma, fue descrita posteriormente por Davies y Ganderton (1975), que también demostraron hipersensibilidad inmediata por la aplicación de un extracto acuoso de polvo de las uñas en la membrana ocular conjuntiva y a través de pruebas de punción cutánea.

Davies y Ganderton (1975) elaboraron un informe preliminar basado en dos casos de estudio. El primer caso trataba de una podóloga que había desarrollado conjuntivitis y enrojecimiento de la membrana ocular conjuntiva. El segundo reportó una afección ocular similar, pero con dolor retro-orbital y eczema en párpados. El sujeto, en este caso, "ama de casa" de ocupación, declaró que sus problemas oculares habían comenzado cuando su marido, podólogo de profesión, convirtió parte de su casa en un despacho podológico (133).

Ambos pacientes estaban convencidos de que el polvo de uña fue la causa agravante de sus condiciones. Los dos sujetos dieron reacciones positivas en las pruebas de punción cutánea con un extracto acuoso de polvo de uñas, y también en la prueba conjuntival con dicho extracto.

Complementariamente, pruebas serológicas realizadas a los pacientes mostraron que ambos portaban precipitados de anticuerpos IgG (Inmoglobulina G) a *Trichophyton rubrum* en sangre. Se concluyó que el desarrollo de estos anticuerpos era consecuencia de la inhalación de antígenos de *Trichophyton rubrum*, habiéndose llegado a detectar fragmentos viables del hongo en el aire de la clínica de una escuela de podología donde todas las fresadoras estaban equipadas con sistemas de extracción de polvo.

Por todo esto, estos autores sugieren que la hipersensibilidad alérgica provocada por el polvo de uña en dos personas con historial de exposición en clínicas de podología, establece claramente que el polvo de uña es un alérgeno ocupacional, y que el hallazgo de anticuerpos precipitados contra *Trichophyton rubrum* requería más investigación, con objeto de determinar la prevalencia de estos anticuerpos en el colectivo de podólogos. También consideró prudente investigar la posibilidad de si la exposición diaria del podólogo a partículas inmunogénicas de polvo de uña podría conducir a una enfermedad pulmonar o una pérdida de función ventilatoria.



Davies, Gardenton y Savage (1983) ampliaron su investigación teniendo en cuenta los niveles de anticuerpos en relación con el número de años en la práctica podológica. De los podólogos con 5 o menos años de ejercicio el 8% presentaba anticuerpos, frente al 17% en el caso de 6 o más años de experiencia. Posteriormente (1984) demostraron que el 14% de una muestra más amplia de 577 profesionales habían desarrollado anticuerpos frente a *Trichophyton rubrum* (134).

Abramson y Wilton (1985), en un estudio comparativo entre podólogos británicos y estadounidenses, investigaron el estado inmunológico de podólogos en activo expuestos a polvo de uña, en relación a la presencia de anticuerpos frente a *Trichophyton rubrum*. Los resultados mostraron que entre un 15 y un 17% de podólogos británicos con 15 años o más años de experiencia profesional presentaron anticuerpos contra el hongo. Este porcentaje era superior en profesionales de Estados Unidos, donde en esa época muy pocos equipos disponían de sistemas de extracción de polvo. En este caso, los resultados fueron del 24% (para aquellos profesionales entre 0 y 15 años de práctica) y 29,4% (para los de 16 años o más de experiencia).

Abramson y Wilton (1985) también compararon los títulos de IgE entre podólogos en activo y estudiantes (actuando éstos como controles). Treinta y uno por ciento de los podólogos en ejercicio manifestó valores por encima de los niveles promedio, mientras que ninguno de los estudiantes mostró un aumento en los niveles de IgE. El estudio confirmó una diferencia significativa a $p < 0,001$.

Ward et al. (1989) y Deuell et al. (1991) apuntan al *Trichophyton rubrum* como un factor causal para el asma bronquial en sujetos que sufren de infecciones por dermatofitos. También se ha demostrado que causa otros síntomas tales como rinitis (135) y enfermedades alérgicas de hipersensibilidad (136). Sin embargo, las implicaciones de la inhalación de polvo de uña para la salud se muestran todavía inconcluyentes (137).

Estudios más recientes (Millar 2000) realizados entre podólogos del Reino Unido concluyeron que la prevalencia de asma entre los podólogos llega a ser cuatro veces superior a la media nacional en el país, acompañada de una elevada incidencia de irritación ocular y quejas respiratorias dentro de este colectivo (138). Otro estudio realizado por Matsuoka et al. (2009) concluye que la IgE específica a la sensibilización por *Trichophyton* puede estar asociada con la aparición de asma severa (139).

1.6. Estudios del aire ambiental en el sector de la podología

Son muy escasas las referencias relacionadas con la toma de muestras de aire en clínicas de podología para evaluar la presencia de bioaerosol fúngico en el



aire y, particularmente, para la evaluación de hongos dermatofitos. La mayoría de estudios se centran en la investigación de sintomatología alérgica entre los profesionales a través de cuestionarios y pruebas serológicas (126,127,134,140) y en la caracterización física y biológica del polvo de uña obtenido de bolsas de los extractores de succión (92,94,141,142).

Un estudio realizado dentro del sector de las clínicas podológicas (91) mostró que los niveles de fondo microbianos en el entorno podiátrico consistían principalmente en colonias de mohos mixtos. Las muestras de aire recogidas durante el proceso de fresado de uñas reportaron diversos tipos de hongos saprofitos, incluyendo especies de *Acremonium*, *Penicillium* y *Aspergillus fumigatus*. Los dermatofitos no fueron aislados en el aire muestreado en este estudio, pero se considera que los métodos de muestreo fueron inadecuados en lo que respecta a los tiempos de incubación y los medios de cultivo empleados (91,138).

Old (1998) también examinó la contaminación microbiana del aire interior en el entorno podológico, centrándose en la composición bacteriana. Los resultados indicaron un incremento significativo en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en función de la actividad de la clínica; y un análisis microbiano limitado identificó esporas de bacilos aeróbicos, estafilococos coagulasa-negativos y bacilos difteroides (143)

La producción de polvo de uña asociada a los tratamientos médicos podológicos es inevitable ya sea por métodos manuales o mecánicos. Aun así, el riesgo para los profesionales ha sido mínimamente investigado y, aunque es motivo de preocupación, los riesgos son en gran parte desconocidos. En general, los dermatofitos no están en el aire y su contagio está restringido al contacto directo o indirecto con un cuerpo infectado. Una circunstancia única ocurre cuando los hongos dermatofitos se encuentran unidos a las partículas de queratina del polvo de uña (extremadamente pequeñas y de forma plana), con la posibilidad de alcanzar sitios tales como la piel, el cabello, los ojos y el tracto respiratorio superior e inferior (6,92,126). De forma excepcional, se han llegado a registrar infecciones profundas en pacientes inmunodeprimidos (144).

Respecto a la investigación de hongos dermatofitos en otros entornos, sí existen estudios acerca de su presencia en diversos ambientes. La evidencia de que estos organismos se desprenden de lesiones infectadas fue dada por Rosenthal et al. (1956) que demostraron la presencia de dermatofitos en las aguas de lavado de los pies de personas infectadas (145), y también por Clayton y Noble (1963) que aislaron los dermatofitos y *Candida albicans* del aire al examinar pacientes con infecciones de la ingle (146).

También, existen referencias antiguas en las que se ha estudiado la presencia



de dermatofitos aislándolos en los suelos de las piscinas (147). Estudios posteriores concluyeron que había una presencia significativa de *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* en estos suelos, obteniendo un elevado aislamiento de estas especies durante las estaciones de primavera y verano (148,149).

En base a la bibliografía consultada, solamente se han encontrado dos publicaciones acerca de la calidad del aire en las clínicas de podología (6,150).

El estudio de Coggins (6) se centró en recopilar información sobre los niveles de exposición de los podólogos a riesgos microbianos en las clínicas de podología. Para ello, se reclutó al azar 15 clínicas de podología para participar en el estudio de exposición. Durante el verano y otoño de 2010, las concentraciones de bacterias, hongos, levaduras y mohos en el aire se evaluaron utilizando un impactador en cascada de seis etapas (TE-10-800; Tisch Environmental Inc., USA) emplazado entre el podólogo y el paciente.

El aire, a un caudal de 28,3 l/min, fue impactado contra placas de agar, durante 3 minutos. Éstas contenían medios no-selectivos (para microorganismos aerobios totales) o selectivos, para su posterior incubación, crecimiento y conteo de estafilococos y hongos (incluyendo mohos y levaduras).

Cada una de las 15 clínicas participantes fueron muestreadas durante 1 día y las muestras fueron tomadas por la mañana, antes de que el primer paciente fuera admitido a la clínica, y de nuevo tras la salida del último paciente. Se tomaron muestras duplicadas para cada una de las seis fracciones de tamaño (etapas del muestreador), asegurando que no transcurrieran más de 8 minutos entre la toma de la primera y la segunda muestra. La media de las dos muestras se utilizó como concentración representativa.

Se recogieron 90 muestras en total y se analizaron 30 muestras para bacterias totales, 30 para estafilococos y otras 30 para hongos (incluyendo mohos y levaduras). Sólo se pudieron utilizar los resultados de 72 muestras. Las restantes 18 muestras fueron descartadas bien porque la esterilidad de las placas se vio comprometida durante el transporte al laboratorio, por la imposibilidad de conteo debido a la proliferación excesiva de microorganismos o por un secado excesivo del medio durante la incubación.

Las muestras de bacterias totales fueron tomadas en medio agar nutritivo e incubado a 30°C durante 3 días para su posterior conteo. Las muestras de hongos (incluyendo mohos y levaduras) se tomaron en un agar de extracto de malta ajustado con ácido láctico e incubado a 22°C durante 5 días. Las muestras de estafilococos se tomaron usando un medio suplementado con emulsión de telurita de yema de huevo y se incubaron a 37°C durante 2 días.



Por último, las muestras de hongos dermatofitos se tomaron utilizando la técnica de placa de sedimentación sobre Agar Dermasol y se incubaron a 22°C durante 2-4 semanas.

También se tomaron muestras personales de polvo inhalable total y endotoxina en la zona de respiración del podólogo (mediante cartuchos de toma de muestra colocados en la solapa de la ropa de trabajo). El muestreo se inició por la mañana antes de que el podólogo empezara a trabajar y continuó durante toda la jornada laboral. Estas muestras no incluyeron la determinación de especies fúngicas.

Los resultados del estudio muestran que la media geométrica de concentración de hongos en las clínicas estudiadas es de 422 UFC/m³, con un rango que oscila entre 41,1 y 1914,3 UFC/m³. En relación a los mohos y levaduras, la concentración es de 58,9 UFC/m³ (media geométrica) con un rango desde N.D (no detectado) hasta 1.028,2 UFC/m³. Un porcentaje significativo de todos los bioaerosoles se encontraban en la fracción respirable, que oscilan entre el 65% (para mohos y levaduras) y el 87% (para hongos). No se detectaron hongos dermatofitos en las muestras analizadas por el método de sedimentación.

Respecto a las correlaciones estudiadas, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de bioaerosoles detectadas por la mañana (antes de la actividad) y al final de la jornada. Las correlaciones entre las concentraciones de bioaerosoles (bacterias y hongos), el número de pacientes tratado, el tiempo total de uso de la fresadora no fueron tampoco significativas. Del mismo modo, tampoco se encontraron correlaciones significativas entre las concentraciones de hongos y el número de uñas tratadas con onicomicosis.

En relación al segundo estudio indicado (150) la investigación se centra en el potencial de utilizar luz ultravioleta (UV) para prevenir la contaminación microbiana de superficies e instrumental de uso común en la práctica podológica.

Para ello, se tomaron muestras de aire ambiental en una clínica podológica universitaria con objeto de evaluar la presencia de contaminación microbiana en el aire y, en su caso, valorar si los contaminantes podrían ser transferidos y sobrevivir sobre distintas superficies. El estudio se centró particularmente en las superficies de los armarios donde se guarda el instrumental, determinando y comparando posteriormente las concentraciones de bacterias, hongos y dermatofitos en las diferentes superficies expuestas, en presencia y ausencia de luz UV.

Para analizar en mayor detalle la efectividad de desinfección de la luz UV también se contaminaron artificialmente distintos utensilios de uso común, sumergiéndolos en disoluciones preparadas de bacterias y hongos, que fueron



posteriormente irradiados con luz UV durante diferentes intervalos de tiempo.

Para determinar los niveles de contaminación microbiana del aire ambiental en la clínica de podología se utilizaron muestreadores de impacto (MicroBio 2, Fred Parret Ltd, UK) muestreando 400 litros de aire a un caudal de 100 l/min.

Se tomaron muestras de aire antes, durante y después de las consultas. Las muestras bacterianas se tomaron en Agar de Soja Triptica (AST) y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Para el aislamiento de hongos se utilizó Agar Sabouraud Dextrosa con Cloranfenicol (ASDC) y Agar Dermasel para el aislamiento de dermatofitos. Las placas fúngicas se incubaron a 30°C durante 6 semanas.

Respecto a los niveles de hongos, la concentración de hongos recuperada durante el muestreo de aire fue mucho menor que para las bacterias en ambos medios de cultivo (ASDC / Dermasel). El muestreo de hongos filamentosos en las placas ASDC obtuvo un promedio general de 2,2 UFC/m³ (n = 36, DS ± 0,8), con un predominio de las especies *Penicillium* y *Aspergillus*.

Los hongos recuperados de las placas Dermasel indicaron una concentración media de contaminación del aire de 0,9 UFC/m³ (n = 36, DS ± 0,3). Un total de seis aislamientos Dermasel fueron sometidos a análisis adicionales (PCR – reacción en cadena de la polimerasa) y sólo uno de ellos fue confirmado como *Trichophyton rubrum*. No se recuperaron hongos de los filtros de acetato de celulosa expuestos en los armarios auxiliares, independientemente de si estaban, o no, equipados con una fuente de luz UV.

La presencia de un número muy reducido de dermatofitos aerotransportados sugiere que el riesgo de transmisión aérea de infecciones fúngicas es bajo, pero sí existe. Es más probable que el riesgo de infección cruzada asociado con las infecciones dermatofitas sea mayor por la utilización de instrumentos y fómites contaminados. No obstante, este riesgo se controla mediante los procedimientos de esterilización habitual del instrumental.

La presencia tanto de bacterias patógenas como de hongos en el aire ambiente indica que existe potencial para la contaminación de instrumentos estériles colocados en el área de trabajo del profesional. Los datos indican que el uso de luz UV puede reducir la posibilidad de contaminación aérea de los instrumentos dentro del armario auxiliar, y reducir cualquier riesgo asociado de infección a través del contacto del paciente con dichos instrumentos.

La luz UV también puede eliminar contaminación debida a la deposición aérea entre usos. Sin embargo, a la luz de los resultados del estudio, la exposición a los rayos UV no es capaz de descontaminar completamente el instrumental en casos de contaminación significativa, debido a las formas complejas de alguno



de los instrumentos, que impiden la penetración efectiva de los rayos UV en todas las áreas de potencial deposición. Esto sugiere que el mal uso de armarios auxiliares equipados con luz UV para el reciclaje de instrumentos usados entre pacientes, cómo única medida de esterilización, puede presentar un riesgo de infección cruzada.

1.7. Justificación de la presente investigación de Doctorado

Las actividades de la vida diaria requieren que los individuos inviertan más del 80% de su tiempo en espacios interiores (oficinas, escuelas, hospitales, guarderías, centros comerciales, residencias privadas, etc.). Por tanto, la calidad del aire de tales espacios puede afectar la salud de sus habitantes. La OMS ha estimado que hay 2 millones de muertes anuales en todo el mundo atribuibles a los contaminantes del aire interior (IAC) (151) y también ha clasificado este fenómeno como el décimo factor de riesgo evitable en importancia para la salud de la población en general (152).

Es por ello que cuidando la calidad del aire o ambiente interior se cuida, en definitiva, la salud de las personas.

Como muestra de la creciente preocupación acerca de los efectos que sobre la salud tiene la calidad del aire que respiramos, tanto a nivel nacional como internacional, existe una gran lista de guías, normativas y leyes que tratan de regular los aspectos que influyen en la calidad del aire interior. Una muestra de esto se puede ver en el apartado 1.3. (Normativa general de calidad de aire interior) donde se expone un conjunto de normativas y regulaciones que se consideraron adecuadas para este estudio. No obstante, hay muchas más que no se han recogido por considerarse que no contribuyen significativamente a la investigación que se va a presentar.

Por otro lado, hay evidencias fundadas según lo expuesto en apartados anteriores, acerca de la posibilidad de la generación de un bioaerosol fúngico contaminado por hongos dermatofitos durante la actividad laboral del podólogo. Dicho aerosol podría ser inhalado en el desarrollo de su actividad laboral. Los hongos dermatofitos son hongos patógenos cuya exposición a las vías respiratorias pueden provocar una patología alérgica (entre otras) más o menos grave, dependiendo del tamaño de partícula de estos bioaerosoles.

Según la bibliografía consultada, existe un número muy limitado de referencias que han caracterizado las exposiciones personales del podólogo a bioaerosoles en su puesto de trabajo, y ninguna de carácter nacional.

Por todos los factores anteriormente indicados se plantea la presente investigación de Doctorado. El objetivo es diseñar y ejecutar un estudio piloto



que permita evaluar la posible exposición de los podólogos a potenciales riesgos microbiológicos presentes en el aire ambiental de las clínicas de podología.

La investigación se centra, de forma específica, en el estudio de la exposición a hongos dermatofitos y, de forma general, a otros los hongos filamentosos ambientales y levaduras. Se ha optado por abarcar todo el espectro fúngico ambiental puesto que la superficie de la uña es colonizada por más tipos de hongos (no sólo por dermatofitos) que pueden ser emitidos al ambiente durante la práctica profesional, aunque los dermatofitos serían, a priori, los más peligrosos.

La información obtenida servirá para conocer en qué medida el profesional tiene que considerar la utilización de equipos de protección individual (EPIs) y evitar de esta forma riesgos innecesarios. También se podrá conocer qué tipo de hongos ambientales no dermatofitos son los que más predominan en el aire interior del conjunto de clínicas de podología participantes en el presente estudio.d.

Además, este estudio puede servir para desarrollar programas de comunicación de riesgos y de buenas prácticas laborales, con objeto de incrementar la conciencia de los profesionales del sector en relación a estos aspectos de seguridad y salud en el trabajo, y mejorar la prevención y control de las infecciones de origen medioambiental.

Al investigar un problema de calidad de aire interior suele elaborarse previamente una estrategia práctica que consiste en una aproximación por fases. La primera, la investigación inicial, puede realizarse utilizando técnicas de higiene industrial habituales y debe estructurarse de forma que el investigador no necesite ser un especialista en el campo de la calidad del aire interior (21).

La metodología propuesta en la presente investigación se basa en un proyecto piloto de tipo observacional consistente en la toma de muestras del aire interior en las salas de quiropodología de 17 clínicas de podología de la Ciudad de Madrid, durante las estaciones de Primavera y Verano. El muestreo se realizará con un muestreador por impacto (M Air T - Millipore) y dos medios de cultivos con diferente especificidad para el crecimiento de hongos.

OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

El objetivo principal de la investigación es el análisis del bioaerosol fúngico (hongos dermatofitos, hongos filamentosos y levaduras) presente en el aire interior de las salas de quiropodología en 17 clínicas pertenecientes al ámbito privado y ubicadas en la Ciudad de Madrid, durante las estaciones de primavera y verano del año 2014.

2.1. Estudio bioaerosol: hongos dermatofitos

Análisis del bioaerosol fúngico para hongos dermatofitos presentes en el aire interior de las salas de quiropodología en 17 clínicas pertenecientes al ámbito privado y ubicadas en la Ciudad de Madrid, durante las estaciones de primavera y verano.

- ✓ Valorar si determinados tratamientos podológicos generan bioaerosoles contaminados por hongos dermatofitos que, una vez inhalados, suponen un riesgo potencial para la salud del podólogo.
- ✓ Cuantificar e identificar los niveles de esporas de hongos dermatofitos presentes en el aire interior de las clínicas de podología entre las Fases de pre actividad, actividad y post actividad. Comparación con estudios anteriores.
- ✓ Determinar la naturaleza del contaminante y grupo en el que el que está clasificado.
- ✓ Identificar y establecer la posible relación de los niveles de esporas de hongos dermatofitos encontradas en el aire interior de las clínicas, con las variables de estudio tenidas en cuenta a la hora de realizar la recogida de la muestra:
 - Sospecha de onicomycosis del paciente durante la toma de muestra en fase de actividad;
 - Utilización de sistemas de aspiración;
 - Presencia de ventanas en la sala;
 - Antigüedad de la sala;
 - Dimensiones de la sala;
 - Temperatura de la sala durante la toma de la muestra;
 - Humedad relativa de la sala durante la toma de la muestra;



- Hora de toma de la muestra

2.2. Estudio del bioaerosol: hongos filamentosos y levaduras

Análisis del bioaerosol fúngico para hongos filamentosos y levaduras, presentes en el aire interior de las salas de quiropodología en 17 clínicas pertenecientes al ámbito privado y ubicadas en la Ciudad de Madrid, durante las estaciones de primavera y verano.

- ✓ Conocer la variación estacional y la prevalencia de las especies más relevantes encontradas en el exterior e interior, en la estación de primavera y verano.
- ✓ Analizar la importancia de la carga fúngica obtenida en el estudio en el interior y exterior de las clínicas muestreadas.
- ✓ Estudiar la variación en la concentración obtenida en cada una de las fases muestreadas en el estudio, en las dos estaciones y la relación de esta concentración con cada una de las fases entre sí.
- ✓ Comparar los valores de la concentración fúngica obtenidos en el estudio con diversas referencias que, se considera, podrían ser de aplicación.
- ✓ Valorar la influencia de las variables tenidas en cuenta para el estudio en relación a la carga fúngica obtenida en el interior de las clínicas:
 - Humedad relativa de la sala durante las tomas de las muestras.
 - Temperatura de la sala durante las tomas de las muestras.
 - Sistemas de climatización.
 - Dimensiones de la sala de quiropodología.
 - Presencia de ventanas en la salas de quiropodología.

MATERIAL Y MÉTODO



3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1. Medición ambiental de los agentes biológicos. Estrategia de muestreo.

Para planificar un procedimiento de muestreo adecuado al tipo de estudio que se va a realizar en la presente investigación, se ha revisado la bibliografía que trata el estado actual de la normativa y legislación en cuanto a la estrategia a seguir para los muestreos de contaminantes biológicos como parte del proceso de investigación de los problemas de calidad del aire interior.

A continuación se exponen las referencias que más han influido a la hora de diseñar el presente estudio. Existen más referencias que pueden aplicarse y que están descritas en el apartado 1.3. de Normativa y que se han utilizado a modo de consulta y complemento.

- NTP-1064: Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (I). Estrategia de muestreo (2015).
- NTP-1065: Calidad del aire interior . Contaminantes biológicos (II). Tipos de muestreo (2015).
- Guía Técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (57).
- NTP 608: Agentes biológicos: planificación de la medición (2001)
- Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide (Technical Guide T-24,). Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRRSST). Montreal (Quebec), Canadá.
- NTP 609: Agentes Biológicos: equipos de muestreo (I).
- NTP 611: Agentes Biológicos: análisis de las muestras.
- NTP 488: Calidad del aire interior: identificación de hongos.

Las citadas normas y guías describen todos los aspectos que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar un “plan de muestreo”, si bien no siempre se puede cumplir con todas las recomendaciones que se proponen, como es el caso de no disponer de los recursos técnicos necesarios o una financiación limitada.

En esos casos, los objetivos del estudio irán encaminados a realizar una investigación preliminar o estudio piloto, como es el caso de la presente investigación, con el fin de realizar una primera aproximación a lo que sería un



“posible riesgo de inhalación de bioaerosoles en el entorno laboral de podología”.

A continuación, en cada apartado relativo a Material y Método se irá describiendo, en primer lugar, lo que las citadas referencias indican sobre el mismo y en segundo lugar, cómo se ha desarrollado el presente estudio con respecto a dichas recomendaciones.

3.1.1. Propósito de una medición ambiental.

El objetivo de una “evaluación ambiental” es comprobar la presencia de agentes biológicos en un ambiente y, en función de los objetivos establecidos, determinar alguno de los componentes del bioaerosol. Los datos obtenidos complementan la información que se obtenga por otras vías (humedad relativa, temperatura) y que es necesaria para el estudio de la situación.

No siempre es obligatorio hacer una medición ambiental como elemento esencial de la evaluación de riesgos por exposición a agentes biológicos. El Real Decreto 664/1997, en su artículo 4 “Identificación y evaluación de riesgos”, no exige explícitamente la medición ambiental como elemento esencial de la evaluación de riesgos por exposición a agentes biológicos.

Sin embargo, en ciertas circunstancias, la medición es útil. En este caso, es aconsejable determinar la utilidad de la misma que puede ser orientada a:

- Utilizar la medición para recabar información sobre la presencia de agentes biológicos (cantidad y naturaleza) en un determinado ambiente.
- Utilizar dicha medición como herramienta en la evaluación del riesgo de los profesionales debido a la exposición a agentes biológicos, riesgo que, fundamentalmente en el caso que nos ocupa, está asociado a la exposición a bioaerosoles (57).

En el presente estudio:

Se utilizará la “evaluación ambiental” y su medición para recabar información acerca de la presencia de hongos dermatofitos en el aire interior de las salas donde los podólogos tratan las infecciones ungueales por dermatofitos mediante las técnicas clínicas propias de su actividad. Estas técnicas incluyen el fresado y reducción de las láminas ungueales mediante equipos (micromotores) que incorporan fresas rotativas a alta velocidad.

La medición en el aire interior de las clínicas, realizada en tres etapas (fase de pre actividad, actividad y post actividad) se llevará a cabo, entre otros objetivos,



para determinar la naturaleza del contaminante y grupo en el que está clasificado, el grado y potencial duración de la exposición de los trabajadores.

Además, se ampliará esta medición a los hongos filamentosos ambientales para valorar la presencia de éstos y de otros hongos no dermatofílicos. Esto dará una idea de si la calidad del aire de las clínicas de podología en cuanto a la presencia de hongos es aceptable.

De esta forma estaría definido el objetivo principal de una evaluación ambiental, determinando los componentes fúngicos de los bioaerosoles en suspensión que se encuentran en el aire interior de las clínicas de podología.

3.1.2. Lugar de muestreo. Selección de las clínicas. Consentimiento informado.

La selección del lugar de muestreo debería de ser el área o áreas donde se haya producido los problemas y donde se sospeche, en base a la inspección realizada previamente, que pueda existir contaminación biológica.

De manera simultánea, si es posible, sería recomendable realizar también el muestreo en áreas de control con el fin de comparar los resultados obtenidos. Estas serán normalmente del aire exterior.

El equipo de muestreo debe colocarse en el centro de la sala que se va a muestrear, alejado de puertas, ventanas (las cuales deberán permanecer cerradas), escaleras o fuentes de calor que puedan crear corrientes inducidas, y situado sobre un trípode a 0,75-1,5 metros por encima del nivel del suelo, con el fin de simular la zona de respiración y eliminar cualquier error potencial.

Para la realización de este estudio:

Se seleccionaron diez y siete (17) clínicas de podología del ámbito privado de la Ciudad de Madrid, que mostraron su interés en participar en la investigación. Cada una de estas clínicas fue muestreada a lo largo de un día y durante un año (2014), entre las estaciones de primavera (mediados abril-mediados mayo) y verano (mes de julio). La comparativa entre ambas estaciones servirá para valorar si este factor estacional influye en la distribución de los hongos dermatofitos en el aire interior de las salas de podología según se ha demostrado en algún estudio previo (149).

A las clínicas se le asignó un código numérico, siguiendo el orden de muestreo y una letra según la estación muestreada: 01(P), 02(P), 03 (P), 04(P).....017(P) y 01(V), 02(V), 03(V), 04(V).....017(V). Donde “P” sería la estación de primavera y “V” la estación de verano, durante la cual se muestrearon las mismas clínicas.



Se elabora un documento que se ofrece al profesional antes de comenzar el estudio en la clínica. Consiste en un Consentimiento Informado donde se detalla la metodología a seguir y que servirá para el tratamiento de datos de carácter personal. El **Anexo 1** presenta el consentimiento informado entregado a los podólogos antes de comenzar el estudio en su clínica.

3.1.3. Momento y frecuencia del muestreo. Medios de cultivo seleccionados.

En general, es recomendable la realización de las mediciones antes, durante y después de que el área en cuestión haya sido ocupada. Si se dispone de recursos suficientes conviene hacer las muestras por duplicado.

Para las mediciones de control del aire exterior, los equipos se colocan a la citada altura, alejados de potenciales fuentes de contaminación de bioaerosoles.

En cuanto a la selección de los medios de cultivo, éstos deberán reunir las condiciones adecuadas para proporcionar los nutrientes necesarios permitiendo y favoreciendo el desarrollo de los microorganismos objetivo.

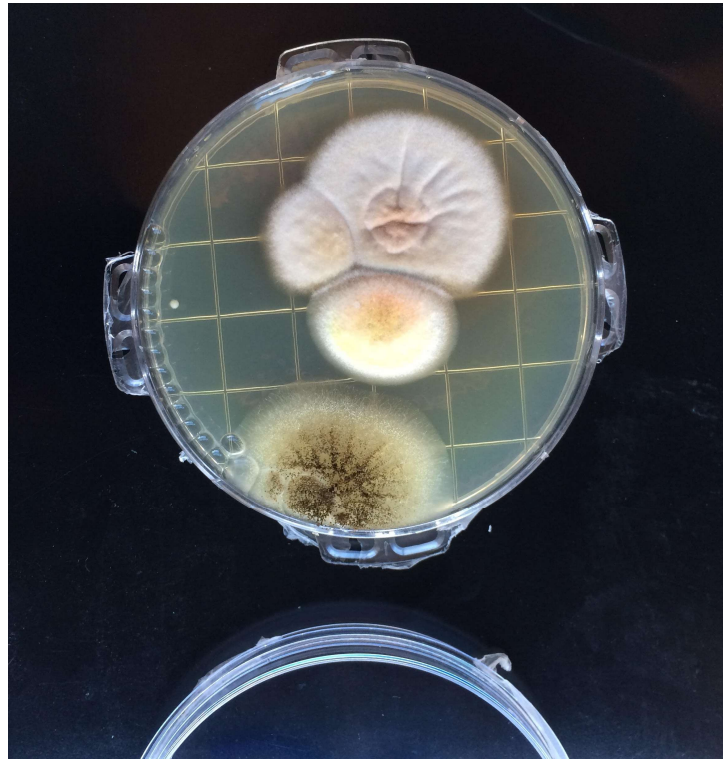
Se recomienda la utilización de Agar Sabouraud con Cloranfenicol y gentamicina para los hongos filamentosos (153).

Para la realización de este estudio:

Se empleó Agar Glucosado de Sabouraud con cloranfenicol (SDA-Sabouraud Dextrosa Agar), que es el medio más característico y clásico para mohos. Se utiliza frecuentemente para el aislamiento a partir de una muestra y para la descripción de las características de la mayoría de los hongos (154). La Figura 2 presenta una fotografía del medio de cultivo SDA utilizado en las campañas de muestreo.



Figura 2. Fotografía del medio de cultivo SDA.



Para la captación de hongos dermatofitos se ha seleccionado Agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol – Mycosel (MYC), un medio de cultivo específico muy utilizado (154), ver Figura 3. La cicloheximida inhibirá el crecimiento de hongos interferentes no patógenos y el cloranfenicol, antibiótico de amplio espectro, inhibe el crecimiento de bacterias.

Figura 3. Fotografía del medio de cultivo MYC.



Para la realización de este estudio:

Al inicio de la mañana, antes de que la clínica comenzase su actividad, se realizó la toma de la muestra de un Blanco Exterior (Fase de exterior), en la vía pública, a pocos metros de la entrada de los locales donde se ubican las clínicas, como referencia o “control” exterior. El equipo se colocó sobre un trípode, a una elevación aproximada de 1,5 m sobre el suelo, según muestra la Figura 4.



Figura 4. Registro fotográfico de la toma de muestra exterior en la vía pública.



La Fase de Exterior consistió en la toma de dos muestras alternando dos medios de cultivo con diferente especificidad tal y como se muestra en las Figura 5. Uno para hongos filamentosos más general (SDA) y otro para hongos dermatofitos más específico (MYC) en el siguiente orden:

- Primero se tomó la muestra para hongos filamentosos con el medio general (SDA).
- Al terminar el muestreo de filamentosos, inmediatamente después, se tomó la muestra con el medio de cultivo específico para hongos dermatofitos (MYC).

Cada uno de los muestreos duró en torno a 6 min. Las concentraciones de hongos obtenidas en el blanco se usarán como referencia para establecer una comparativa relativa entre los niveles determinados en exterior e interior de las salas.

Figura 5. Placas con los medios de cultivo y su denominación.



Una vez terminada la Fase de exterior, se procedió a las tomas en el interior de las clínicas o Fase de Interior. En total se tomaron seis muestras en el interior, en la sala dedicada a la actividad de quiropodología:

- Dos muestras antes de comenzar la actividad (Fase de pre actividad), alternando dos medios de cultivo con diferente especificidad: SDA (para la primera toma con el medio general) y MYC (para la segunda toma con el medio cultivo específico para hongos dermatofitos).
- Dos muestras durante la actividad (Fase de actividad con pacientes), alternado los dos medios de cultivo igual que en la fase anterior: SDA, MYC.
- Dos muestras al final de la actividad (Fase de post actividad, tras el último paciente), alternado igualmente los dos medios de cultivo: SDA, MYC.

Los muestreos de interior se realizaron con el muestreador situado en la zona entre el profesional y el paciente, cerca del área de respiración, sobre un trípode a unos 1,5 m del suelo. La Figura 6 presenta la configuración de muestreo para las fases de pre actividad y post actividad, tanto para el muestreo de dermatofitos como de hongos filamentosos.



Figura 6. Registro fotográfico de las tomas de muestra interior pre- y post-actividad.



Durante la toma en la fase de actividad el muestreador se colocó de igual forma que en las otras dos fases, sobre un trípode a la altura de respiración del podólogo, ver Figura 7. No obstante, en algunas ocasiones durante las operaciones de fresado, fue necesario realizar el muestreo con el muestreador sostenido en las manos, manteniendo las distancias propuestas en todo momento, ver Figura 8. Se realizó de esta forma ya que los profesionales tendían a desplazarse rápido hacia los lados con su asiento rodable y no se podía mantener el equipo en una posición fija con el trípode porque condicionaba la normal operación de la clínica.

Figura 7. Registro fotográfico de la toma de muestra de hongos filamentosos en la fase de actividad (sin fresado).



Figura 8. Registro fotográfico de la toma de muestra de hongos dermatofitos en la fase de actividad (durante el fresado).





Las especificaciones relativas a cómo se realizó la elección de los pacientes de los cuales se tomaría la muestra durante la actividad se especifica en el apartado 3.2.

Se anotó la hora de la toma de la muestra así como la temperatura y la humedad relativa, tanto dentro del gabinete de podología como en el exterior, en el momento del muestreo.

También se tuvieron en cuenta aspectos de la sala que podrían influir en los resultados del estudio, tales como: si el profesional disponía, o no, de equipos de aspiración (y de qué tipo de aspiración se trataba), la existencia de ventanas en la sala, la presencia de sistemas de climatización o aire acondicionado y si se encontraban operando en el momento del muestreo. Otras variables como las dimensiones de la sala y los años de antigüedad también fueron anotadas.

3.1.4. Duración y volumen del muestreo.

Para calcular la duración del muestreo es necesario tener en cuenta que las concentraciones y los componentes de los bioaerosoles presentan una variación temporal considerable, incluso en periodos muy cortos de tiempo.

Por otro lado, la técnica de muestreo depende de si el objetivo es captar microorganismos cultivables, totales u otro tipo de contaminantes biológicos. Si se sospecha que la concentración de contaminantes biológicos pueda ser baja se requiere el empleo de grandes volúmenes de aire.

Cuando se muestrean grandes volúmenes de aire se puede crear un estrés en los microorganismos dificultando el crecimiento, salvo en el caso de esporas fúngicas y otros microorganismos resistentes a la desecación. Debido a esto, el medio de cultivo en el que se capten debería ser el adecuado para preservar su viabilidad, y el tiempo de muestreo debería ser el menor posible para reducir al máximo el efecto de la desecación.

Por lo tanto, las variaciones espaciales y temporales de las concentraciones de bioaerosoles y los tiempos de muestreo cortos, típicos de los muestreadores por impactación directa en medio de cultivo, hacen recomendable planificar muestreos secuenciales o simultáneos, por duplicado, para obtener estimaciones fiables de la concentración del bioaerosol.

Por otra parte, las muestras secuenciales de corta duración permiten obtener información sobre las fluctuaciones de concentración y, a la vez, estimar dichas concentraciones.



Para la realización de este estudio:

El documento emitido por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) en 2012 para la toma de muestras en quirófanos y unidades de inmunodeprimidos recomienda la utilización de un método volumétrico por impacto con un volumen de aspiración de 1000 l de aire en cada toma (155).

Por lo tanto y, ante la posibilidad de que la concentración de hongos dermatofitos en el ambiente fuera baja debido a la utilización de los sistemas de aspiración de los profesionales se optó por adoptar la medida propuesta por el SEIMC muestreando en cada toma, tanto para hongos dermatofitos como filamentosos, un volumen de 1000 l.

Se tomaron muestras secuenciales en el interior de las clínicas para valorar la fluctuación en cuanto a la concentración de hongos en el aire interior de las mismas, durante diferentes fases a lo largo de la jornada laboral.

La duración del muestreo viene predeterminada por el equipo de muestreo utilizado, con un tiempo estimado para cada muestreo de aproximadamente unos 6 min.

3.1.5. Equipos de muestreo

Los equipos de muestreo más utilizados para estas evaluaciones están diseñados para obtener muestras en períodos relativamente cortos de tiempo. El problema es que los componentes de los bioaerosoles y su concentración puede variar de forma amplia entre distintos ambientes y en el tiempo. También se ha establecido un número de muestras que se hayan de tomar para minimizar esta variabilidad de los resultados, como se ha expuesto en el apartado que habla de la frecuencia del muestreo (3.1.3).

Por otro lado, el muestreador debe de tener una eficacia de muestreo conocida y documentada. Esta eficacia se divide en:

- Eficacia física del muestreo: capacidad del equipo para captar partículas de un determinado diámetro. El parámetro que representa principalmente la eficacia de captación de un impactador es el diámetro de corte (d_{50}), que se corresponde con el diámetro aerodinámico de la partícula (d_a) para el cual la eficacia de captación será del 50%. Así, las partículas con d_a superior al d_{50} , la eficacia de captación será del 100%. Esto significa que, a la hora de seleccionar el impactador adecuado, es necesario considerar su d_{50} , el cual no debería ser superior a la del contaminante biológico que se pretende determinar.



En la Tabla 4 se muestran algunos de estos diámetros aerodinámicos. En concreto, el diámetro aerodinámico de las esporas y fragmentos fúngicos que son los que se van a tratar en el presente estudio.

Tabla 4. Diámetro aerodinámico (D_A) de contaminantes biológicos presentes en el aire interior. NTP 1064. Contaminantes biológicos. Equipos de muestreo.

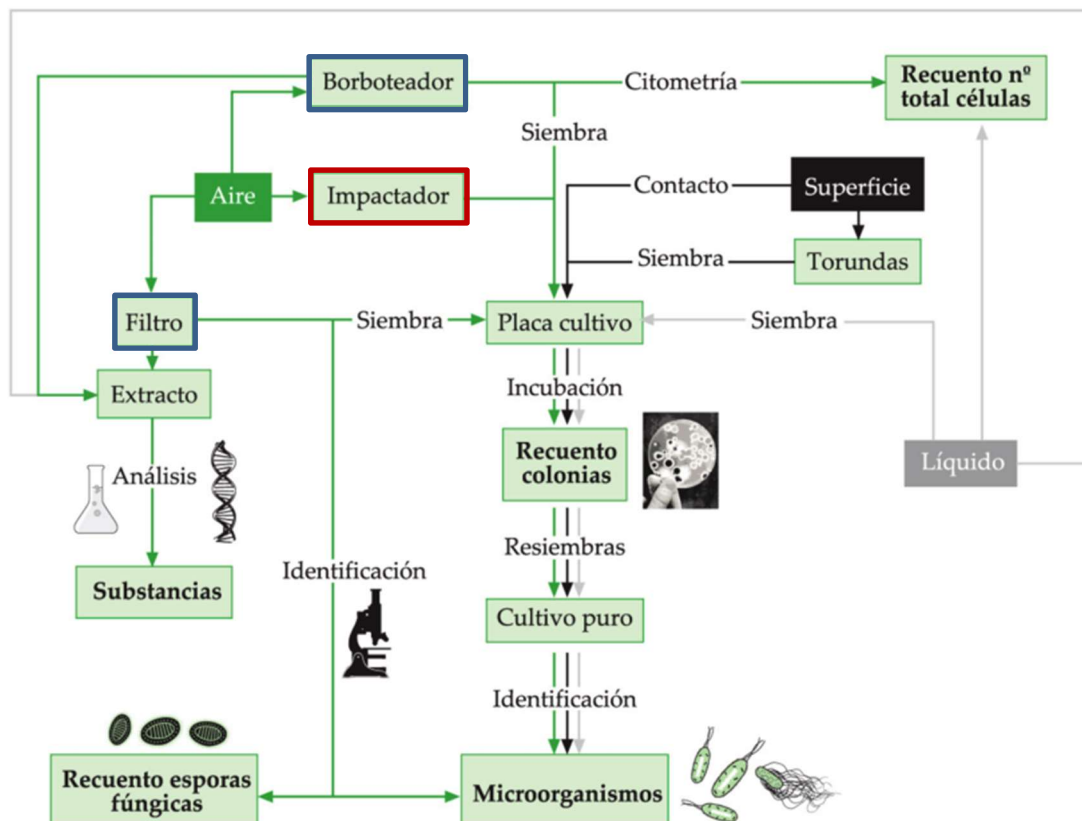
Tipo de partícula	D_A (μm)
Bacterias individuales	0,5 - 3
Esporas fúngicas	1 - 30
Fragmentos fúngicos	< 1
Granos de polen	10 – 100
Alérgenos de perros	9
Alérgenos de gatos	2,5
Alérgenos de cucarachas	< 5
Alérgenos de ácaros	10 - 20

- Eficacia de conservación biológica: capacidad del equipo para mantener viabilidad de los microorganismos durante su captación, transporte y análisis.

Existen diferentes métodos de muestreo dependiendo de los soportes que se quieran muestrear: superficie, líquidos o aire. Las determinaciones en superficies o líquidos se emplean como complemento a la determinación ambiental.

En la Figura 9 se encuentran resumidos los diferentes métodos de muestreo, ensayos analíticos y determinaciones de los agentes biológicos.

Figura 9. Métodos de muestreo, ensayos analíticos y determinaciones de los agentes biológicos de agentes biológicos.



Fuente: Guía Técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (2014)

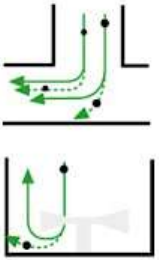
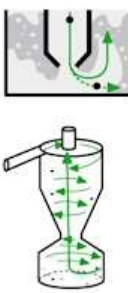
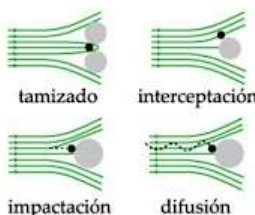
Las metodologías y equipos para la determinación ambiental de bioaerosoles se pueden clasificar en tres tipos: impacto, filtración y borboteo.

Estas metodologías de muestreo permiten obtener tanto los bioaerosoles cultivables (bacterias y hongos que pueden crecer en un medio de cultivo), cuyo resultado se indica como “unidades formadoras de colonias” (UFC), como los bioaerosoles contables (esporas fúngicas, células bacterianas y otras estructuras) que pueden identificarse y contarse mediante microscopía, como sustancias determinables por ensayos bioquímicos, genéticos, etc.

Todos ellos presentan ventajas e inconvenientes. En la Tabla 5 se resumen las ventajas e inconvenientes de los equipos utilizados con mayor frecuencia.



Tabla 5. Equipos de captación. Ventajas e inconvenientes de los principales tipos de captación.

Principio de captación	Ventajas	Inconvenientes
<p>Impactación en agar</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Captación directa en medio de cultivo. • Equipos portátiles. • Separación por fracción de partículas. • Recuento e identificación de especies cultivables. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sobrecarga de la placa de cultivo en ambientes muy contaminados. • Solapamiento de colonias. • Muestreos distintos para diferentes agentes biológicos (distintos medios de cultivo). • Requiere procesar un número elevado de placas de cultivo. • Ineficiente captación de partículas < 5 µm. • Tiempos de muestreo cortos. • Alteración de la eficiencia del muestreo debido a la velocidad del aire.
<p>Impactación en líquido (borboteo)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Mejora la supervivencia (evita muerte por desecación). • Permite diferentes análisis. • Permite la dilución. • Permite la separación en tres fracciones de partículas. • Permite muestreo personal. • Facilita la dispersión de agregados. 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere procesado posterior de las muestras. • Fragilidad del equipo (excepto los de acero). • Requiere rapidez en el traslado y procesamiento de las muestras para evitar el crecimiento microbiano. • Pérdidas por evaporación del líquido. • Requiere esterilización entre muestras. • Alteración de la eficiencia del muestreo debido a la velocidad del aire.
<p>Filtración</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Permite muestreo personal. • Permite muestreos de larga duración. • Indicado para sustancias y estructuras resistentes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida de viabilidad por desecación. • Pérdidas por atracción electrostática del material de plástico. • Manipulación posterior de las muestras. • Alteración de la eficiencia del muestreo debido a la velocidad del aire.

Fuente: Guía Técnica para la evaluación de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos.

Pero además, a la hora de aplicar de estas metodologías existen distintos factores que a su vez pueden tener significación sobre la representatividad y fiabilidad de los resultados obtenidos (ver Tabla 6).

Estos factores han de tenerse en cuenta en el diseño, realización de la toma de la muestra y análisis. En cualquier caso se tratan de métodos apropiados siempre que su uso sea correcto y riguroso.

Tabla 6. Aspectos que pueden incidir en los resultados obtenidos en la medición de microorganismos viables y cultivables.

Ambiente	Daños durante la fase de aerosol	El microorganismo puede sufrir daños (morir o dejar de ser cultivable) por efecto de las condiciones ambientales: <ul style="list-style-type: none"> • Sequedad. • Temperatura. • Radiación. • Compuestos tóxicos para el microorganismo.
	Equipos de toma de muestras	Sesgo en la medición: <ul style="list-style-type: none"> • El diseño de la zona de entrada no permite captar con la misma eficacia todos los tamaños de partículas.
Muestreo	Daños durante la captación	El diseño de la entrada del aerosol y la velocidad del aire pueden afectar la viabilidad de los agentes captados.
	Tiempo/Volumen de muestreo	Programaciones inadecuadas en función de la concentración previsible en un ambiente pueden conducir a resultados tales como ⁽¹⁾ : <ul style="list-style-type: none"> • No detectado (ambientes limpios y muestreos cortos, método analítico poco preciso alrededor del límite de detección). • Incontables (ambientes sucios y muestreos largos). ⁽¹⁾ Resultados no aceptables; se recomienda ajustar los parámetros y repetir la medición
	Soportes de retención no adecuados	Filtros: <ul style="list-style-type: none"> • Muerte por desecación. • Daños que impiden su cultivo. • Daños morfológicos que impiden su identificación. Medios de cultivo: <ul style="list-style-type: none"> • No permite el crecimiento de una determinada especie • Favorece el desarrollo de unas especies sobre otras (competencia).
Transporte	Manipulación de las muestras	Posible contaminación de las mismas.
	Condiciones del transporte	Tiempo: <ul style="list-style-type: none"> • Las muestras deben ser transportadas al laboratorio lo antes posible. Un tiempo de transporte prolongado en condiciones inadecuadas puede permitir que los microorganismos empiecen a multiplicarse, lo que hace imposible saber cuántos se captaron originalmente. Temperatura: <ul style="list-style-type: none"> • Se recomienda el transporte a bajas temperaturas (4 °C) que ralentiza la multiplicación. Pero el frío o el calor excesivos pueden ocasionar daños que interfieran con el crecimiento.
Análisis	Cultivo de microorganismos	Recuento de colonias erróneo por: <ul style="list-style-type: none"> • Placas sobrecargadas, que no permiten establecer el número de colonias. • Crecimiento de agregados, que dificultan identificar como separadas colonias formadas por agregados microbianos. • Competencia. Algunas especies pueden segregar sustancias tóxicas para otras inhibiendo su crecimiento. • Solapamiento. El tamaño y forma de unas colonias ocultan otras. • Ausencia de crecimiento de algunas especies que requieren condiciones de cultivo específicas.

Fuente: Guía Técnica para la evaluación de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos.



Para la realización de este estudio: Muestreo de aire por impactación

De los muestreadores que se encuentran disponibles para el muestreo de bioaerosoles, aquellos que basan su funcionamiento en el método de impactación son los más empleados para captar contaminantes biológicos.

En la Tabla 7 se exponen algunas de las características de diversos impactadores, según diferentes estudios realizados.

En los muestreadores de impactación, los contaminantes biológicos son captados o retenidos en placas o tiras con medio de cultivo sólido o semisólido, en un medio líquido o en portaobjetos de vidrio para su posterior análisis microscópico.

Tabla 7. Parámetros estudiados de diversos impactadores.

TIPO DE MUESTREADOR	EJEMPLOS	Q (l/min)	Nº DE ORIFICIOS	W o D ^A (mm)	S (mm)	D ₅₀ (µm)
Impactador multiorificio	BioCulture	120	380	1,25 (ext.) 2,3 (int.)	1,7	7
	MAS-100	100	400	0,7	2,8	1,7
	M Air T	140	1.000	0,46	5,84	2,3
	Microflow	30 - 120	378	1,1 (ext.) 2,5 (int.)	1,89	>10 – 8,8
	SAS Super 90	90	219	0,8	n.d.	2 - 4
	SAS Super 180	180	400	0,8	2,16	≈ 2
	Duo SAS Super 360	360	219	1	n.d.	≈ 1
	SMA	28,3 – 141,5	12	6,3	5	>10 – 4,8
Impactador en cascada	Andersen 1 etapa	28,3	400	0,25	1,5 ^B	0,65
	Andersen 2 etapas	28,3	200	1: 1,5 2: 0,4	1,5 ^B	1: 8,0 2: 0,95
	Andersen 6 etapas	28,3	400	1: 1,18 2: 0,914 3: 0,711 4: 0,533 5: 0,343 6: 0,254	1,5 ^B	1: 7,0 2: 4,7 3: 3,3 4: 2,1 5: 1,1 6: 0,65
Impactador en rendija	Casella MK-II	30-700	1	0,35	2	0,67
	Mattson-Garvin Air Sampler	28	1	0,152	2,5	0,53
Trampa de esporas	Burkard	10	1	2	n.d.	5,2
	Allergenco MK-3	15	1	1,1	n.d.	≈ 2
	Air-O-Cell	10	1	1,1	1	2,3 – 2,5
	Allergenco-D	10	1	1,1	0,89	≈ 1,7
	Micro-5	5	1	2,1	<<1	0,8
Borboteador o impinger	AGI-4, AGI-30	12,5	-	-	-	0,3
	BioSampler	12,6	-	-	-	0,3
Muestreador centrífugo	RCS High Flow	100	n.d.	n.d.	n.d.	1,2
	Ciclón Coriolis µ/δ	100-300	1	n.d.	-	< 1
	Muestreador ciclónico NIOSH de una etapa	2 - 4	1	1,99	-	1,5
	Muestreador ciclónico NIOSH de dos etapas	2 3,5	1	n.d.	-	2,6, 1,6 1,8, 1,0

A: D hace referencia a la anchura del orificio
B: valor máximo recomendado
n.d.: no disponible

Fuente: INSHT: NTP 1.065 (2015).

La impactación en placa para microorganismos viables y cultivables presenta la ventaja de que estos pueden ser captados directamente en el medio de cultivo para su subsiguiente incubación y conteo de las colonias que se han formado sin necesidad de un procesamiento posterior al muestreo, como ocurre con los muestreos en medio líquido (*impingement*). Aunque estos últimos pueden presentar otras ventajas como preservar mejor la viabilidad de los microorganismos, siendo mayor la eficiencia de captación.

El impactador seleccionado para la realización de este estudio es el impactador multiorificio Millipore Air Tester (M Air T), disponible en el departamento de microbiología de la Universidad Complutense de Madrid. Éste se encuentra entre los muestreadores multiorificio de una sola etapa, en los que la entrada de aire está constituida por múltiples orificios circulares. Puede colocarse en posición horizontal o vertical y, al igual que los otros muestreadores de una etapa, opera a un caudal elevado que permite el análisis de ambientes con bajo nivel de contaminación, o de aquellos donde se requiera el muestreo de grandes volúmenes de aire durante cortos periodos de tiempo.

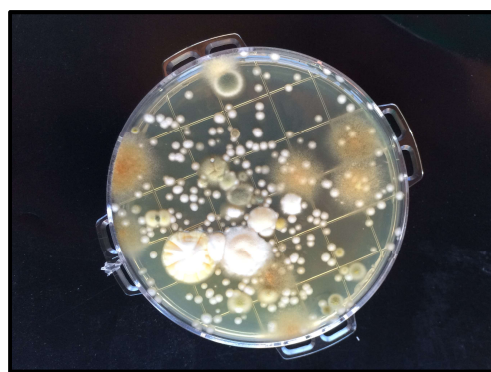
Impactador multiorificio de una etapa. Millipore Air Tester (M Air T).

El muestreador M Air T consta de un cabezal con una rejilla microperforada con 967 orificios de 0,46 mm de diámetro para distribuir mejor las colonias y evitar su solapamiento.

La cantidad de agar en el cassette de toma de muestra (20g con una profundidad de 6mm) minimiza la evaporación del agua durante el ciclo de muestreo.

Los cassetes tienen un nivel de llenado consistente y superficie plana, con un diámetro de 90mm, asegurando que su muestreo es del mismo volumen de aire en cada análisis. Estos cassetes llevan incorporada una rejilla que divide la superficie en zonas más pequeñas para facilitar el recuento de colonias tal y como aprecia en la Figura 10.

Figura 10. Cassetes del M Air T donde se observa la rejilla que divide la placa en secciones.





Emplea secuencialmente dos caudales diferentes, uno de 140 l/min para los primeros 500 litros de aire muestreado y, a continuación, uno de 180 l/min al que cambia automáticamente. El ciclo completo dura aproximadamente unos 6 minutos.

Su eficiencia de captación supera el 60% para partículas con $d_a \geq 3 \mu\text{m}$, pero se ha observado una disminución considerable cuando opera a un caudal de 180 l/min. Esta disminución parece ser debida a la desecación del agar durante la primera etapa de 140 l/min. Para partículas con $d_a \leq 1 \mu\text{m}$, muestra una eficiencia de captación muy pequeña, de aproximadamente el 5%, que puede suponer una limitación para el caso de las partículas más pequeñas.

El muestreador M Air T (Millipore) comparte características similares con el muestreador MAS-100 (Merck) y con el muestreador SAS (Surface Air System) los cuales aparecen representados en la Figura 11 y que también son muy utilizados en muestreos de este tipo.

Figura 11. Muestreadores multiorificio.



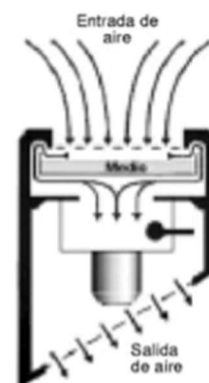
M Air T



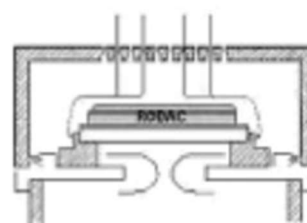
Cassete MAir T



MAS 100



SAS Compact





3.1.6. Transporte de las muestras durante la presente investigación

Una vez realizada la toma de la muestra, el cassette se selló con film adhesivo perimetral para evitar deshidratación del medio de cultivo.

Las muestras destinadas al cultivo y posterior análisis (recuento de colonias e identificación de especies) se enviaron correctamente identificadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) lo antes posible, en las 24 horas posteriores a la toma de la muestra.

3.1.7. Análisis de las muestras. Condiciones de incubación.

En la impactación directa sobre el medio de cultivo hay que tener la precaución de comprobar que estas placas de cultivo estén en perfecto estado y que no presentan ninguna contaminación antes de colocarlas en el equipo de muestreo. Si se observara que en la placa ha crecido alguna colonia, hay que desechar el lote.

Cuando el soporte de captación de un microorganismo ha sido una placa con un medio de cultivo (captación ambiental), los microorganismos impactados en ella se multiplicarán formando colonias. La temperatura de incubación corresponderá con la del normal desarrollo del microorganismo en la naturaleza.

Numerosos hongos y bacterias libres crecen de manera óptima a temperaturas que oscilan entre 18°C y 25°C, la mayoría de los hongos lo hace bastante mal a temperaturas por encima de 35°C. Se asegura un buen crecimiento de todos los hongos filamentosos a una temperatura de 30°C.

La temperatura óptima de incubación para microorganismos patógenos es de 37°C, que es la temperatura del cuerpo humano donde se desarrollan esos microorganismos; estas condiciones de incubación sólo son apropiadas cuando de las muestras se trata de aislar patógenos. Por ejemplo, *Aspergillus fumigatus* crecen bien a temperaturas más elevadas, de manera que este hongo puede aislarse de forma selectiva si se incuban las muestras a 35 - 40°C.

Para la realización de este estudio:

Las muestras, una vez recepcionadas en el Departamento de Microbiología de la UCM son procesadas mediante incubación en estufa convencional.

Para las muestras de hongos (incluyendo mohos y levaduras) se incubaron los medios Agar Glucosado de Sabouraud (SDA) a 30°C durante 7 días. En el caso de los hongos dermatofitos, las placas Sabouraud con clorheximida y cloranfenicol – Mycosel (MYC) se incubaron a 30°C durante 3-4 semanas.



3.1.8. Recuento de colonias.

La obtención de la concentración de microorganismos se basa en la relación entre el número de colonias que se han contabilizado y el volumen de aire aspirado, que es función del caudal al que esté calibrado el muestreador y el tiempo de muestreo.

En algunos equipos, como los impactadores multiorificio, es preciso realizar un ajuste estadístico sobre el número de colonias contadas que contemple la probabilidad de que más de una partícula haya impactado en el mismo lugar. En estos equipos las partículas asociadas a un microorganismo atraviesan el cabezal del equipo que está perforado por un número determinado de orificios e impactan sobre un punto de la placa de cultivo y allí se inicia el desarrollo de las colonias. Al efectuar el conteo puede resultar difícil ver si en la zona de impactación hay una o varias colonias, pudiéndose contar como una cuando hay más. A medida que aumenta el número de partículas depositadas en el medio, la probabilidad de que la siguiente partícula pase por un orificio "limpio" es más baja.

Para evitar la infravaloración de las colonias crecidas se aplica una fórmula de corrección (Feller) que es:

$$Pr = N \left[\frac{1}{N} + \frac{1}{(M-1)} + \frac{1}{(N-2)} + \dots + \frac{1}{(N-r+1)} \right]$$

Pr : es el número estimado de partículas cultivables.

r: es el número de colonias contadas en la placa.

N es el número total de orificios por plataforma del impactador.

En el presente estudio:

Se realizaron lecturas diarias de las placas para detectar crecimiento lo antes posible. En cada lectura se realizó el recuento de colonias y la posterior identificación siguiendo los métodos habituales de identificación de hongos.

En el muestreador por impacto M Air T, la corrección de Feller está cercana a la unidad, por lo que no es necesario la corrección de resultados.

3.1.9. Identificación de Hongos filamentosos en la presente investigación.

La identificación de los hongos filamentosos se basó en el examen macroscópico de la colonia y en sus características microscópicas. Semejanzas macroscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos son muy útiles para la identificación.



En general, la morfología microscópica de los hongos es estable y presenta pocas variaciones. La identificación definitiva se basa en la forma característica, método de producción y ordenamiento de las esporas, siendo también importante conocer el tamaño y la disposición de las hifas.

La preparación del material para la observación microscópica puede realizarse en fresco, con cinta de celofán adhesiva o mediante cultivo sobre portaobjetos.

Preparación con cinta de celofán adhesiva

El procedimiento consiste en:

- i) Apoyar el lado engomado de un trozo de cinta adhesiva transparente sobre la superficie de una colonia.
- ii) Colocar la cinta bien extendida sobre una gota de azul de lactofenol o azul de anilina colocada, a su vez, sobre un portaobjetos.
- iii) Observar al microscopio para conocer la forma y ordenamiento característico de las esporas.

La preparación de la cinta transparente permite observar al microscopio como se desarrolla el microorganismo en el cultivo. Generalmente las esporas se mantienen intactas y la identificación se realiza con facilidad.

Una de las desventajas de este método es que si la cinta transparente no se presiona con suficiente firmeza sobre la superficie de la colonia, la muestra no es adecuada, ya que al no quedar bien adherida la cinta, las esporas o las hifas no se pueden identificar.

En los casos en que mediante este método no se observaron esporas en el primer intento, se repitió la identificación volviendo a tomar otro fragmento de la colonia inicial.

Para las levaduras, la identificación se basó en el aspecto macroscópico de las colonias.

Para la confirmación de colonias de hongos dermatofitos, se realizó la Prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Reacción en cadena de la Polimerasa. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Los hongos dermatofitos provocan las onicomycosis y, de forma rutinaria, son identificados por microscopía óptica utilizando KOH al 10%. Sin embargo, las desventajas de este método son el alto número de falsos positivos y una incapacidad para diferenciar entre infecciones dermatofíticas y no dermatofíticas.



Habitualmente, un diagnóstico definitivo depende del aislamiento del hongo dermatofito en un cultivo, pero este método se asocia a menudo con una sensibilidad pobre y resultados retardados (156).

La metodología de identificación del hongo dermatofito por examen directo al microscopio tiene entre un 5-15% de falsos negativos (157).

Ante este hecho, si lo que interesa es detectar de forma rápida y fiable la presencia de una determinada especie, se precisan métodos muy específicos y sensibles. Los avances en biología molecular ofrecen diversos métodos que, genéricamente, están basados en el reconocimiento de secuencias de ADN (ácido desoxirribonucleico).

Existen varias técnicas de PCR que pueden ser utilizadas. Se describe, en su forma más sencilla, como un método *in vitro* de síntesis de secuencias de ácidos nucleicos seleccionados, por el cual segmentos concretos de ADN son específicamente replicados. El ADN se mezcla con bases de nucleótidos y el enzima polimerasa y se incuba en condiciones de temperatura controlada. La reacción consiste en una amplificación de un fragmento de genoma mediante una pareja de nucleótidos (cebadores) específicos de la secuencia diana (158).

La sensibilidad de este método lo ha convertido en una herramienta de diagnóstico excelente. Entre sus aplicaciones destacan: el diagnóstico de infecciones por virus, bacterias, hongos y parásitos; el diagnóstico de anomalías genéticas; las huellas de paternidad; la cuantificación viral (VIH) o la investigación en el área alimentaria y medio ambiental.

Como se ha comentado, entre las ventajas de este método se puede destacar la sensibilidad y especificidad, la rapidez y su capacidad para detectar microorganismos que son muy lentos o difíciles de cultivar e incluso aquellos que no son cultivables.

Entre los inconvenientes, el principal es que es un método muy focalizado y solo detecta agentes biológicos predeterminados si éstos están presentes, siendo un método cualitativo.

3.2. Criterios de selección de los pacientes. Fase de actividad.

Siempre que era posible, la muestra tomada durante la actividad se realizó con un paciente con “sospecha” de onicomycosis (159,160). Esta condición fue variable dependiendo de la afluencia de pacientes que tuviera ese día la clínica sujeta a muestreo.

Para la clasificación de los pacientes en casos de sospecha SI y sospecha NO de onicomycosis, se utilizaron los criterios primarios y secundarios descritos en



la tabla de factores clínicos (Tabla 3, apartado 1.4.2 – Diagnóstico de onicomicosis). Las muestras que se recogieron durante la actividad se clasificaron de la siguiente forma:

- Sospecha SI: tanto el plato ungueal como la superficie de la uña presentaba signos clásicos de infección por dermatofitos: coloración amarillo/marronácea, estrías y engrosamiento (hiperqueratosis) de la lámina ungueal (121). La uña del primer dedo fue la afectada en el 100% de los casos.
- Sospecha NO: no se observa ningún signo clínico que haga sospechar de micosis en la uña.

El muestreo durante la Fase de Actividad para la muestra de hongos dermatofitos comienza en el momento en el que el profesional procede al fresado de la lámina ungueal del paciente seleccionado.

Puede ser un paciente con sospecha SI o con sospecha NO, dependiendo de si los pacientes citados en la clínica el día del muestreo presentan o no una uña con posible contaminación.

Se escoge este momento como el más adecuado para la toma de la muestra debido a los resultados de estudios previos que demuestran que el fresado de las uñas contaminadas por hongos producen una emisión al ambiente de polvo ungueal cargado de sustancias peligrosas. Estos bioaerosoles se componen de queratina, extracto de queratina, hongos, artrosporas y filamentos y otros restos microbiológicos (92).

Se conecta el muestreador de aire, previa colocación del medio de cultivo selectivo para hongos dermatofitos. Al igual que para el resto de muestras, la duración de cada muestreo fue de unos seis minutos y se muestreó un volumen de aire de 1000 l.

3.3. Análisis estadístico.

Se realizó la prueba de Kolmorov Smirnov para determinar si las variables cuantitativas del estudio proceden de una distribución normal ($P > 0.05$).

Los datos se analizaron con un software estadístico IBM SPSS Statistics, versión 22 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) en ordenador personal. El nivel estadísticamente significativo se fijó en una $p < 0,05$, con un intervalo de confianza del 95%.



Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias mediante tablas de contingencia y diagrama de barras. También se utilizan diagrama de sectores con la distribución de las variables en porcentajes.

Las variables cuantitativas como la humedad relativa y temperatura se representan mediante diagramas de dispersión.

Para las variables cuantitativas que representan valores de concentraciones (UFC/m³) se han utilizado diagramas de cajas y bigotes con los valores máximos y mínimos y los cuartiles Q_1 , Q_2 o mediana y Q_3 , así como la existencia de valores atípicos pudiéndose observar la simetría de la distribución.

Para analizar las variables cualitativas se realizó la Prueba de Independencia de chi-cuadrado.

Se utilizó el Test no paramétrico basado en la Prueba de Diferencias de medianas con la U de Mann-Whitney para muestras pareadas con el objeto de establecer diferencias entre la variable cuantitativa frente a una variable cualitativa.

También se utilizó la Prueba de Kruskal Wallis para comparar más de dos grupos independientes utilizando también la mediana de cada uno de ellos.

***RESULTADOS PARTE I:
ESTUDIO HONGOS DERMATOFITOS***



4. RESULTADOS PARTE I: ESTUDIO HONGOS DERMATOFITOS

Para el estudio de los hongos dermatofitos en las diecisiete clínicas, se tomaron 4 muestras por clínica:

- i) muestra exterior (blanco);
- ii) antes de comenzar la actividad (pre-actividad);
- iii) durante la actividad y;
- iv) una vez finalizada la misma (post-actividad).

Estas tomas se repitieron para la estación de primavera y verano, analizándose un total de 136 muestras para la determinación de hongos dermatofitos en UFC/m³ (unidades de formación de colonias por metro cúbico de aire).

Las muestras tomadas para la determinación de hongos dermatofitos en las 17 clínicas muestreadas, tanto en la estación de primavera como en verano, en los períodos comprendidos antes de comenzar la actividad (pre actividad), una vez finalizada la misma (post actividad) así como en la muestra tomada en el exterior (blanco), no mostraron concentraciones detectables de dermatofitos (0 UFC/m³).

Únicamente, se obtuvieron concentraciones apreciables de hongos dermatofitos en las muestras correspondientes al período de actividad, cuyos resultados y estudio estadístico se presentan en los siguientes apartados.

4.1. Análisis de las muestras – Fase de Actividad

En el análisis de las **muestras totales** tomadas durante el período de actividad, se obtuvieron resultados positivos para dermatofitos en 8 de los 34 casos analizados (23,5%). La concentración osciló entre 0 UFC/m³ y 243 UFC/m³.

De estas **muestras** totales obtenidas durante este período de actividad (n=34), un 52,9% de las mismas (n₁=18), procedían de **pacientes con sospecha de onicomycosis**.

4.1.1. Análisis de casos totales (n=34)

En la Tabla 8 se muestra la concentración total (UFC/m³) de hongos dermatofitos para cada una de las clínicas en las dos estaciones. Durante las estaciones de primavera y verano se obtuvieron cultivos positivos para hongos dermatofitos en dos (5,9%) y seis (17,6%) clínicas respectivamente, siendo la diferencia estacional no significativa (p=0,085).



Tabla 8. Número total de colonias (UFC/m³) para cada clínica durante las dos estaciones (P y V).

Estación	Clínicas muestreadas (año 2014)																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Primavera (P)	5	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	7
Verano (V)	n.d	n.d	n.d	n.d	*	n.d	243	8	n.d	n.d	8	n.d	17	n.d	5	n.d	32

n.d: < L_D por debajo del límite de detección. * missing (la clínica 5 se dio de baja en la campaña de verano)

En general, se obtuvo un número mayor de muestras contaminadas por hongos en la estación de verano (75% del total de positivos). La clínica Nº 17 es la única que evidencia presencia de hongos dermatofitos tanto en la estación de primavera como en la de verano.

En la Tabla 9 se muestra la concentración de cada una de las especies identificadas y su distribución por clínicas.

Tabla 9. Distribución de hongos dermatofitos por especies y su concentración por clínica y campaña de muestreo.

Hongos dermatofitos. distribución por especies	Muestras positivas (n=34)	Clínica	UFC/m ³	Campaña muestreo
<i>T. rubrum</i>	6	Clínica 1	5	Primavera
		Clínica 7	243	Verano
		Clínica 8	8	Verano
		Clínica 15	5	Verano
		Clínica 17	7	Primavera
			32	Verano
<i>T. Mentagrophytes</i>	2	Clínica 11	17	Verano
		Clínica 13	8	Verano

Las especies de hongos dermatofitos aislados en el aire fueron: *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. El más frecuente fue el *Trichophyton rubrum* que apareció en el 75% de las muestras positivas (6 de 8). La concentración de *Trichophyton rubrum* varió desde n.d (no detectado) a 243 UFC/m³ para la estación de verano y de n.d a 7 UFC/m³ para la estación de primavera. La concentración de *Trichophyton mentagrophytes* varió de n.d a 17 UFC/m³ en la estación de verano, no encontrándose concentración para esta especie en la estación de primavera.

Los resultados en todos los casos mostraron siempre especies aisladas (o *Trichophyton rubrum* o *Trichophyton mentagrophytes*). En ninguna de las muestras se observaron colonias mixtas con ambas especies a la vez.

4.1.2. Análisis de casos con sospecha ($n_1=18$)

Dado que un porcentaje elevado de muestras analizadas durante el período de la actividad (18 casos de 34 muestreos) procedían de pacientes clasificados como casos con sospecha de onicomycosis (52,9%) se analizó su importancia para este estudio.

El 100% de los casos positivos para hongos dermatofitos (8 casos), se dieron en muestras que se recogieron de pacientes con sospecha de onicomycosis.

En la Tabla 10 se muestra la distribución de las muestras según su clasificación por sospecha SI o sospecha NO y estación de muestreo.

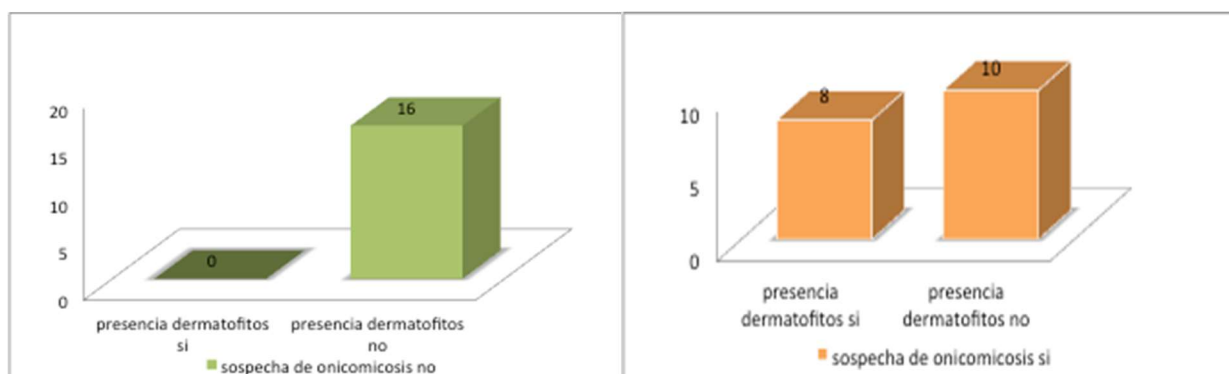
Tabla 10. Distribución de los casos con sospecha de onicomycosis en las muestras totales analizadas. Distribución estacional (primavera/verano).

CLASIFICACIÓN PACIENTES	Número casos (fi) PRIMAVERA	Número casos (fi) VERANO	% TOTAL
SOSPECHA SI	8	10	55,88
SOSPECHA NO	9	6	44,12

En la estación de primavera se dieron 8 casos con sospecha de micosis, de las 17 clínicas muestreadas. En la estación de verano se dieron 10 casos con sospecha de onicomycosis, lo que implica una mayor prevalencia de casos con sospecha frente a la estación de primavera.

En la Figura 12 se muestra de forma gráfica la influencia de “casos con sospecha” en la presencia de dermatofitos en las muestras. En los casos en los que no hay sospecha, no hay presencia de dermatofitos en las muestras de aire analizadas.

Figura 12. Relación entre el número de muestras positivas durante la actividad y los casos de sospecha de onicomycosis.





4.2. Análisis de las variables tenidas en cuenta en el estudio

Se realizó un análisis estadístico mediante el Software *IBM SPSS Statistics 22*, en ordenador personal, relacionando los casos totales con las variables descritas en el apartado de objetivos, con el fin de valorar si dichas variables guardan relación con la presencia de hongos dermatofitos en el aire interior.

Para el estudio de la relación entre las variables categóricas que se han analizado se utilizó la Prueba de independencia (Chi-cuadrado).

La **Tabla 11** presenta la tabla de contingencia para el estudio de casos totales (n=34) e incluye las variables sujetas a evaluación y el valor de su significación estadística.

Tabla 11. Asociación entre las distintas variables y la presencia de dermatofitos en las muestras analizadas (estadístico Chi-Cuadrado).

Variables. Casos Totales (n=34)		Presencia dermatofito		p
		SI	NO	
Utiliza Aspiración	Aspiración SI	3	19	0,04
	Aspiración NO	5	6	
Aire Acondicionado	Aire conectado SI	6	17	0,71
	Aire conectado NO	2	8	
Presencia de ventanas en sala	Ventanas SI	2	15	0,08
	Ventanas NO	6	10	
Tª Sala (momento del muestreo)* Tª primavera-verano: entre 23-25°C Tª otoño-invierno: entre 21-23°C Valores límites: entre 17-27°C	Dentro de valores límite	6	21	0,57
	Fuera de valores límite	2	4	
Dimensiones de la sala	Menos de 10 m ²	4	10	0,62
	Mayor o igual a 10 m ²	4	15	
Hora de la toma muestra	Por la mañana	1	9	0,21
	Por la tarde	7	16	
Humedad relativa* entre 30-70 % H R. Tanto para la primavera como verano	Dentro valores limite	8	24	0,56
	Fuera valores limite	0	1	
Sospecha de onicomycosis	Sospecha SI	8	10	0,03
	Sospecha NO	0	16	
Campaña de muestreo	Primavera	2	15	0,85
	Verano	6	10	

* Valores de la Tª y H.R tomados de las ref: UNE 171330_2:2014.

No se ha encontrado asociación entre las variables que se han tenido en cuenta durante el presente estudio y la presencia de dermatofitos en el aire interior salvo para dos de ellas: (i) “sospecha de micosis “ (p= 0,03) y (ii) “utilización de sistemas de aspiración” (p=0,04).



4.2.1. Variable (i): “Sospecha de onicomycosis”

Esta variable presenta significación estadística ($p=0,03$) y ha sido descrita en el apartado **4.1.2** (Análisis de los casos con sospecha) tratándola de forma independiente debido a su relevancia en este estudio.

Como se ha comentado anteriormente, para la clasificación de los pacientes en casos de sospecha SI y sospecha NO de onicomycosis, se han utilizado los criterios primarios y secundarios descritos en la tabla de factores clínicos (Tabla 3, apartado 1.4.2 – Diagnóstico de onicomycosis).

A modo de resumen se puede concretar que el 100% de las muestras positivas para hongos dermatofitos (8 muestras) proceden de pacientes cuyas láminas ungueales tenían algún tipo de signo clínico compatible con sospecha de onicomycosis, no habiéndose encontrado, por lo tanto, dermatofitos viables en ninguna de las muestras de aire tomadas durante el periodo de actividad en pacientes sin sospecha.

A la luz de estos resultados, se puede concluir que el riesgo de exposición del podólogo al hongo dermatofito por la vía de inhalación durante la práctica podológica, se encontraría particularmente asociado a procesos de atención clínica que incluyan operaciones de fresado o reducción ungueal de pacientes con sospecha de onicomycosis.

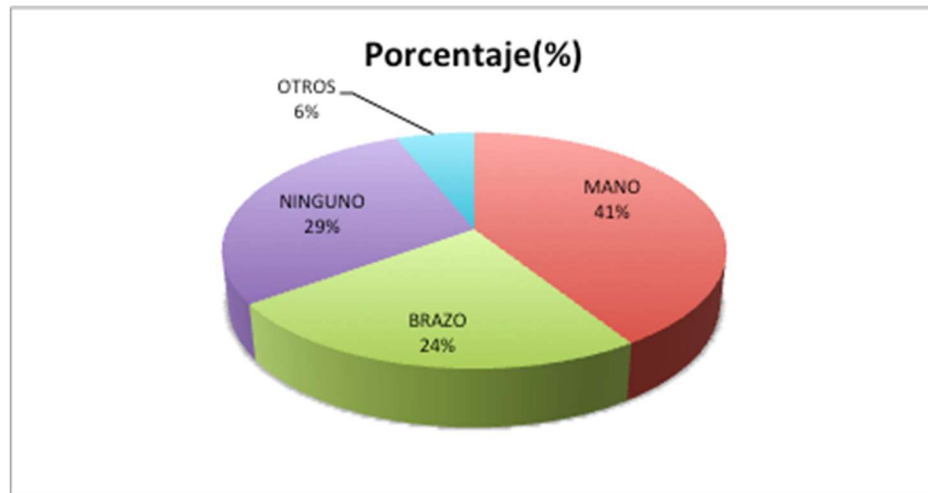
4.2.2. Variable (ii): “Utilización de los sistemas de aspiración”

La utilización de sistemas de aspiración durante las operaciones de reducción ungueal es otra de las variables con correlación estadística significativa en este estudio ($p=0,04$).

Estos sistemas recogen el polvo de la lámina ungueal que se produce en los procesos de reducción o fresado. La Figura 13 muestra el gráfico correspondiente a la distribución en porcentaje de los distintos sistemas de aspiración que utilizaron las clínicas que formaron parte de este estudio. El 71% de las clínicas utilizaron algún sistema de aspiración de polvo ungueal o de dispersión del mismo y el 29% de los profesionales no utilizó ningún sistema de aspiración.



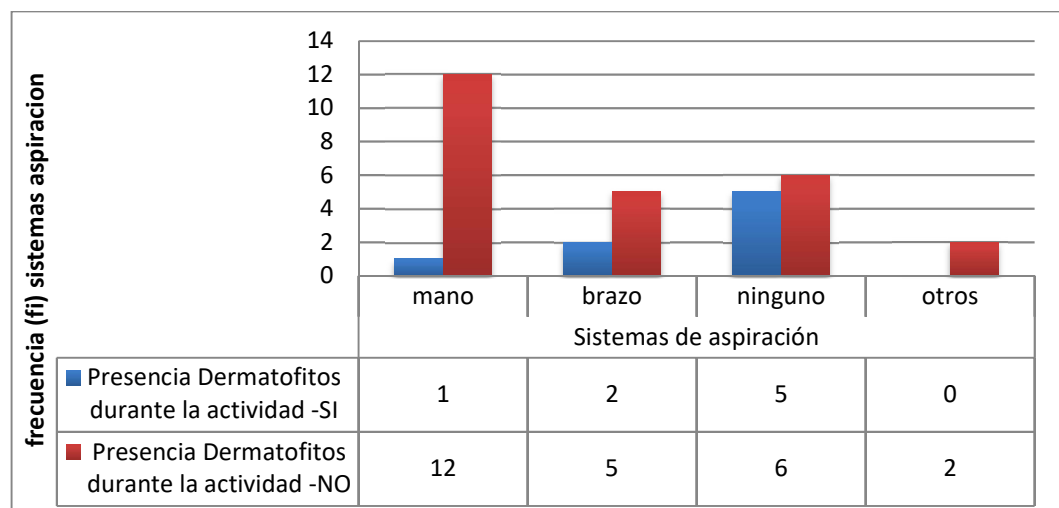
Figura 13. Distribución en porcentaje de los sistemas de aspiración utilizados en las clínicas.



El sistema de aspiración más utilizado entre los profesionales fue el que se encuentra acoplado a la pieza de mano (41%), seguido del brazo articulado (24%) y un porcentaje minoritario (6%) utilizó sistemas rudimentarios de dispersión del polvo (ventiladores).

En la Figura 14 se muestra la relación entre la utilización de los distintos sistemas de aspiración y la presencia de dermatofitos en las muestras analizadas.

Figura 14. Relación entre los distintos sistemas de aspiración y la presencia de hongos dermatofitos en las muestras.



Existe un claro predominio de positivos analíticos en los casos en los que durante las tomas de muestra de aire no se utilizaba un extractor de polvo. De todos los muestreos durante la fase de actividad, en 11 casos (32,3%) no se utilizó ningún sistema de aspiración específico, ver Tabla 11. De éstos, en 5 ocasiones



(45,5%) se detectó la presencia de dermatofitos en las muestras analizadas. De las 22 muestras tomadas donde sí se usaron sistemas específicos de aspiración (64,7% de los casos) únicamente se obtuvieron 3 casos positivos (13,6%), un porcentaje claramente inferior, que evidencia que los sistemas de aspiración, aunque no infalibles, contribuirían a reducir la potencial presencia de bioaerosoles de dermatofitos en el aire interior.

Los sistemas de aspiración utilizados en estos tres casos positivos fueron el sistema de brazo articulado (brazo) en dos ocasiones y el sistema de cánula acoplada a la pieza de mano en la otra (mano). Por lo tanto, aun utilizando el profesional sistemas de extracción específicos, se llegaron a captar hongos dermatofitos en las muestras de aire analizadas durante las operaciones de fresado, en casos en los que existía sospecha de onicomycosis. No obstante, frente al total de casos positivos (8) prácticamente dos tercios (5) corresponden a muestras en las que no se utilizó aspiración, lo que sugiere que su utilización reduce la presencia de bioaerosoles en suspensión durante las operaciones de fresado.

4.2.3. Variable (iii): “Estación de muestreo: Primavera - Verano”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,85$; ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, la estación de la toma de muestra no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

4.2.4. Variable (iv). “Utilización de a/a durante la fase de actividad”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,71$; ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, la utilización del aire acondicionado no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior. En relación a la utilización de los sistemas de aire acondicionado, en primavera el 53% de las clínicas tuvieron conectados estos equipos durante la actividad y en verano el 88%.

4.2.5. Variable (v). “Dimensiones de la sala”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,62$; ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, las dimensiones de la sala no tendrían relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

Las clínicas fueron clasificadas en dos categorías de acuerdo a su superficie:

- A. Clínicas con una superficie de sala inferior a 10 m². De las 17 clínicas muestreadas, siete de ellas (41%) tenían una superficie entre 5 y 9 m²;



- B. Clínicas con una superficie igual o mayor a 10m². De las 17 clínicas muestreadas, 10 de ellas (59%) tenían una superficie entre 10 y 18m².

4.2.6. Variable (vi): “Hora de toma de muestra en fase de actividad”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,21$; ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, la hora de la toma de muestra no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

Los muestreos se clasificaron en dos categorías de acuerdo a la hora en la que se tomó la muestra:

- A. La toma de la muestra se realizó por la mañana (10 de los muestreos);
- B. La toma de la muestra se realizó por la tarde (23 de los muestreos).

4.2.7. Variable (vii): “Presencia de ventanas en la sala”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,08$); ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, la existencia de ventanas en la sala no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

Las salas de quiropodología de las clínicas de podología se dos en dos categorías:

- A. La sala tenía ventanas al exterior: presencia SI;
- B. La sala no disponía de ventanas: presencia NO.

De las 17 clínicas, 9 de ellas (53%) si disponían de ventanas en las salas que daban al exterior. El resto eran salas totalmente cerradas.

4.2.8. Variable (viii): “Tª de la sala durante el muestreo”

Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,57$); ver Tabla 11) por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, la temperatura de la sala durante el muestreo no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

Para la variable Tª en la sala durante la toma de la muestra se hizo una clasificación de las clínicas en dos categorías:

- A. Dentro de los valores límite
- B. Fuera de los valores límite

Esta clasificación se hizo en base a la normativa que rige en la actualidad, como por ejemplo la Norma UNE 171330_2:2014.

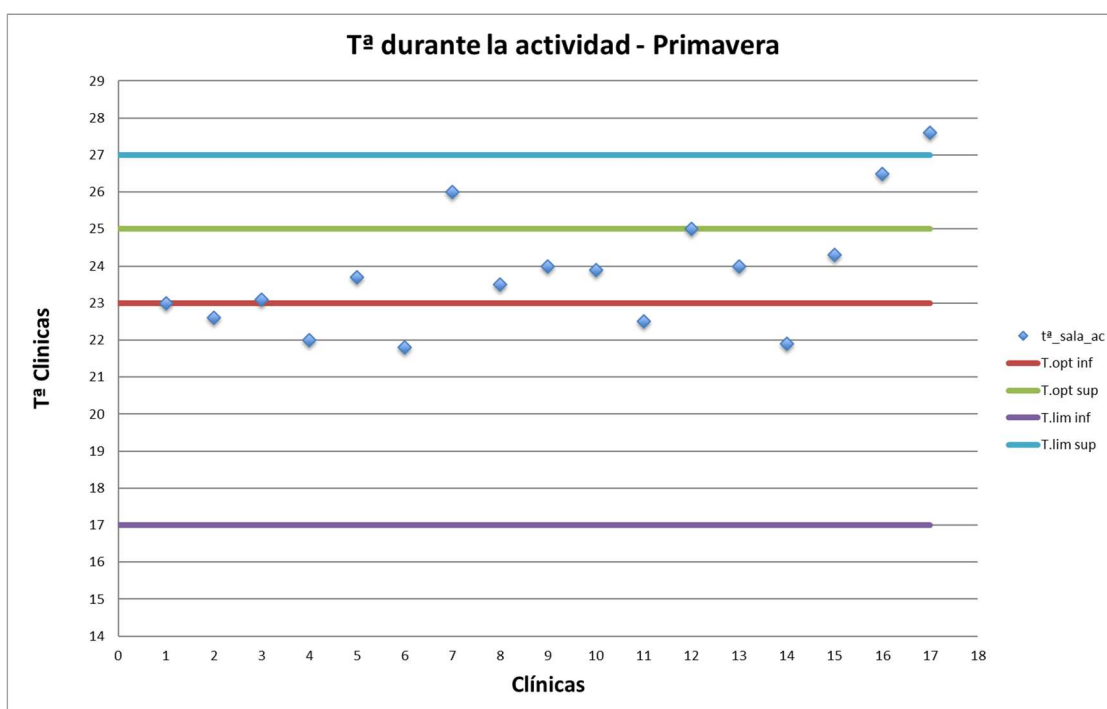
En términos generales, 27 de los 34 muestreos totales se realizaron en clínicas que se situaban dentro de los valores límite establecidos por la normativa mencionada anteriormente.

Los apartados siguientes presentan la evaluación de la variable Temperatura tanto en los muestreos de Primavera como de Verano.

4.2.8.1. Tª de las salas durante la estación de Primavera

La temperatura de la sala durante el período de actividad (**Figura 15**) en la época de primavera varió desde los 23,0°C a los 27,6°C.

Figura 15. Rangos de temperatura en salas de Quiropodología - Campaña de Primavera.



Tª óptima trabajo primavera - verano: entre 23-25°C Valores límite: entre 17-27°C
(valores de la ref: UNE 171330_2:2014).

De las 17 clínicas, tres (3) sobrepasaron el rango de temperatura óptima de trabajo. De éstas, sólo la clínica Nº 17 excedió el valor límite superior establecido según normativa (0,6°C). Las otras dos (clínicas Nº 7 y 16) superaron el valor de Tª óptima por 1,0°C y 1,6°C respectivamente. En las tres clínicas se realizaron los muestreos por la tarde.

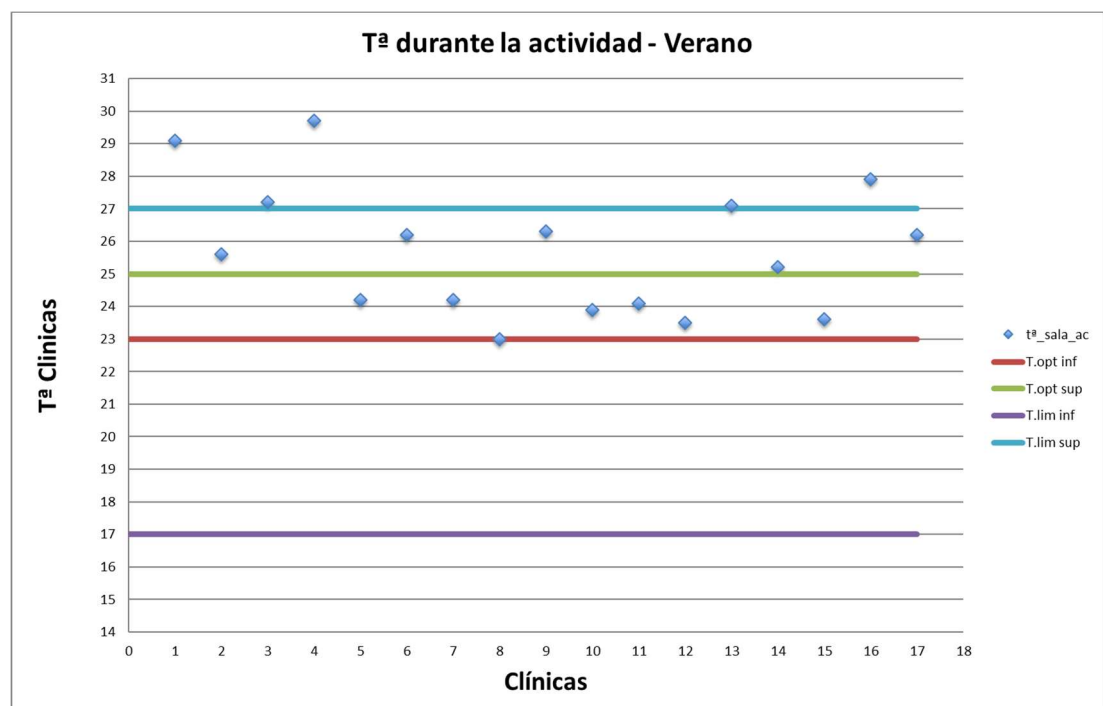


Se encontraron cinco (5) clínicas con temperaturas por debajo del rango de temperatura óptima (entre 0,4°C - clínica N° 3 - y 1,2°C - N° 6 -). No hubo ninguna clínica que se situara por debajo del valor límite inferior. De estas cinco clínicas, tres de ellas fueron muestreadas por la mañana y dos por la tarde.

4.2.8.2. Temperatura de la sala durante la estación de verano.

La temperatura de la sala durante el período de actividad en la campaña de verano varió entre 23,0°C y 29,7°C y se presenta en la Figura 16.

Figura 16. Rangos de temperatura en salas de Quiropodología - Campaña de Verano.



Tª óptima trabajo primavera - verano: entre 23-25°C Valores límite: entre 17-27°C (ref: UNE 171330_2:2014).

De las 17 clínicas, diez (10) sobrepasaron el rango de temperatura óptima de trabajo, entre 0,2°C (clínica N° 14) y 4,7°C (clínica N° 4). De estas 10 clínicas, 5 superaron los valores límite entre 0,1°C (clínica N° 13) y 2,7°C (clínica N° 4). Seis de estas diez clínicas fueron muestreadas por la tarde y cuatro por la mañana.

En verano, no hubo ninguna clínica que se situara por debajo del rango de temperaturas óptima.

4.2.9. Variable (ix): “Humedad relativa de la sala”

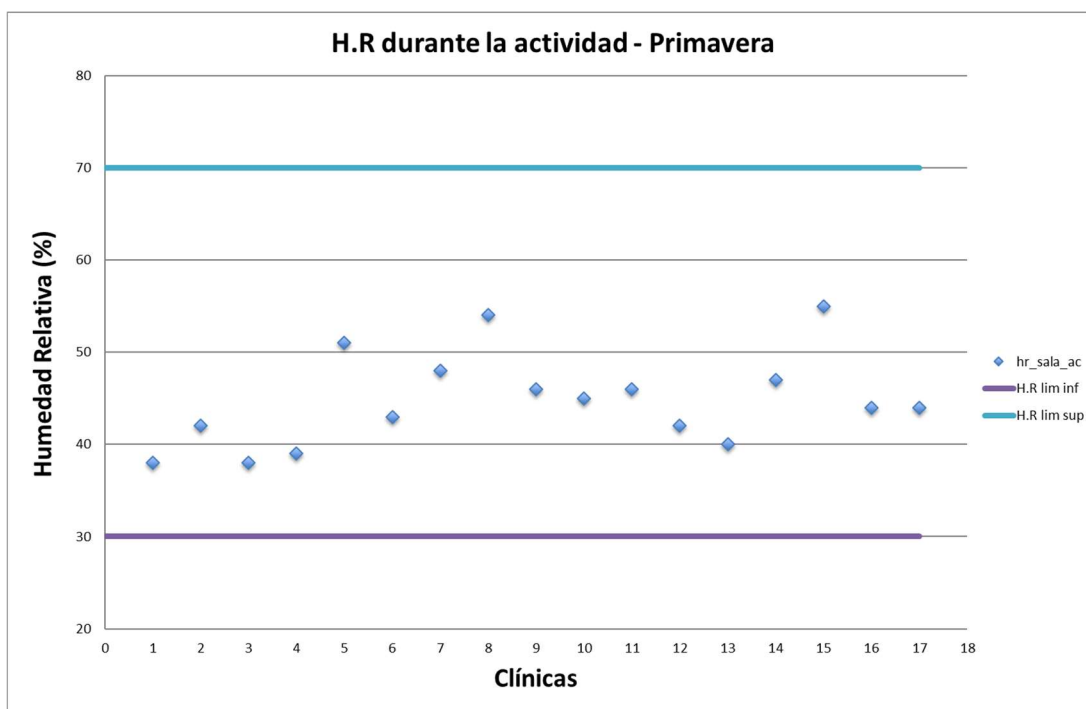
Esta variable no ha tenido significación estadística en este estudio ($p=0,57$); ver Tabla 11, por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos, la humedad relativa de la sala no tendría relación con la presencia o ausencia de dermatofitos en el aire interior.

Para la variable humedad relativa en la sala durante la toma de la muestra se hizo una clasificación de las clínicas en dos categorías, según la norma UNE 171330_2:2014:

- A. Dentro de los valores límite
- B. Fuera de los valores límite

Las Figuras 17 y 18 presentan los valores de humedad relativa en las estaciones de primavera y verano respectivamente.

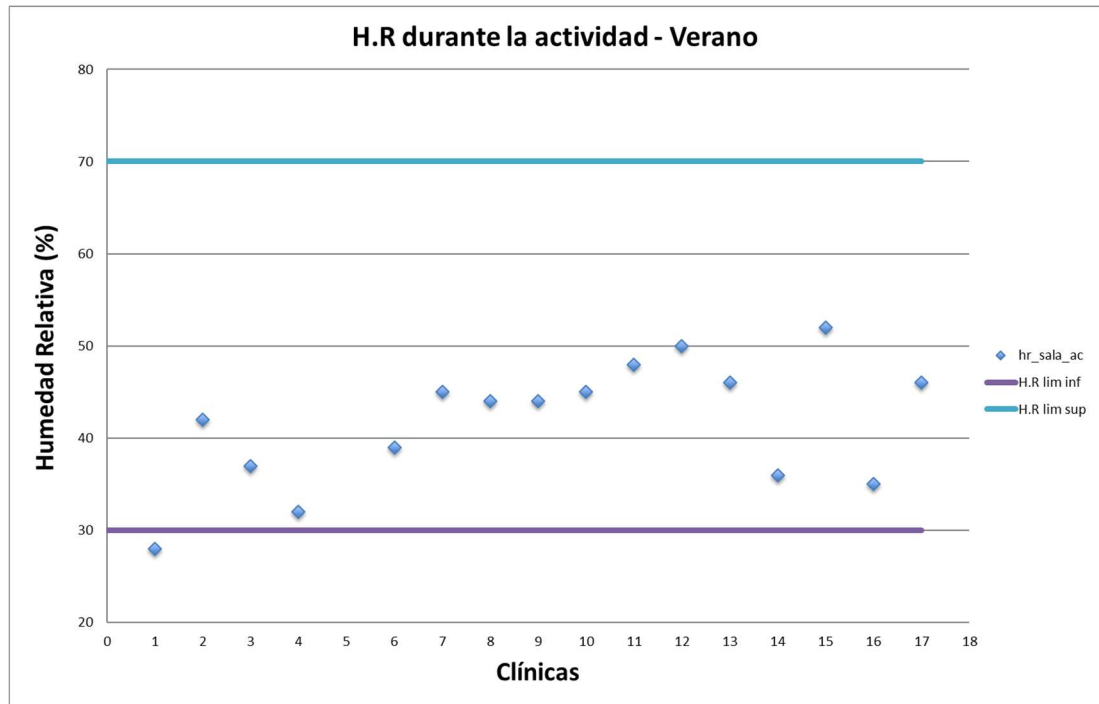
Figura 17. Humedad relativa en las salas de Quiropodología - Campaña de primavera.



Valores límite: entre 30% - 70 % (ref: UNE 171330_2:2014).



Figura 18. Humedad relativa en las salas de Quiropodología - Campaña de verano.



Valores límite: entre 30% - 70 % (valores de la ref: UNE 171330_2:2014).

La humedad relativa varió del 38% al 55% en la estación de primavera y del 28% al 52% en la estación de verano. Todas las clínicas excepto una (clínica Nº 1) en la época de verano, se mantuvieron dentro de los valores recomendados. Esta clínica mostró valores de humedad relativa inferiores a los valores límite (30%) y coincide, a su vez, con uno de los valores de temperatura más elevada medidos durante ambas campañas.

***RESULTADOS PARTE II:
ESTUDIO HONGOS FILAMENTOSOS Y
LEVADURAS***

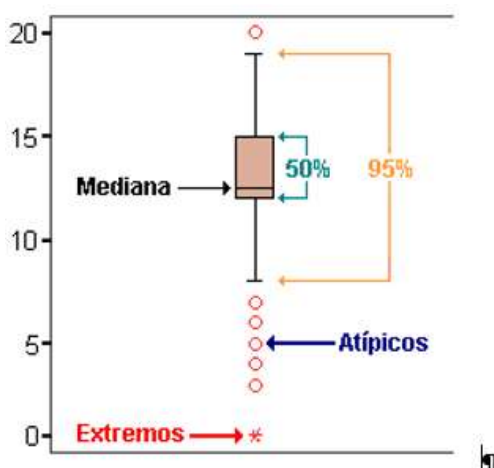


5. PARTE II: RESULTADOS ESTUDIO HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS.

En esta parte de resultados se analizan cada una de las pruebas estadísticas realizadas en el presente estudio y que aparecen en los apartados que se exponen a continuación.

En dichos apartados se detalla:

1. Los resultados obtenidos en las pruebas realizadas se representan de forma gráfica mediante Figuras. Para ello se han empleado diagramas de caja y bigotes que permitirán conocer la distribución y dispersión de las concentraciones obtenidas. Se podrá observar el valor máximo ,minimo y los percentiles 25, 50 y 75. Además, se conocerá la situación de la mediana con respecto a todo el espectro de datos obtenidos para cada análisis.



Los datos puntuales fuera de la caja representan valores sin significación estadística dentro de la población (*atípicos y/o extremos*).

La escala empleada para los diagramas es una escala logarítmica (base 10) para mayor claridad de la representación gráfica.

2. Tablas de resultados con el valor de las medianas para cada análisis.
3. Tablas en las que se resumen los resultados de los valores obtenidos para cada una de las pruebas estadísticas realizadas.

Los **Anexos 2 y 3** incluyen los resultados de concentración obtenidos por clínica, especie y estación de muestreo durante el desarrollo del estudio.

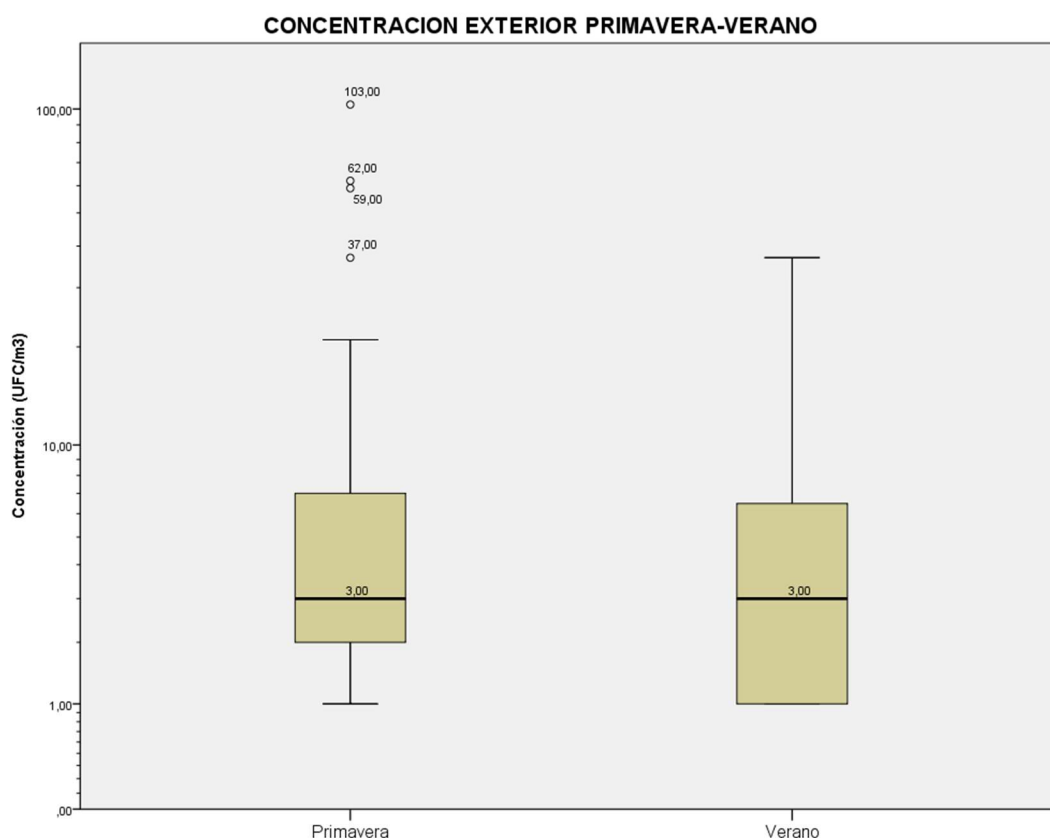
5.1. Estudio de la carga fúngica: EXTERIOR

5.1.1. Comparación carga fúngica total exterior Primavera-Verano.

Se comparan las cargas obtenidas en el exterior de las clínicas en la estación de primavera con las cargas obtenidas en el exterior de las clínicas en la estación de verano.

El gráfico de cajas de la **Figura 19** muestra la distribución de concentraciones obtenida para la carga fúngica exterior de las clínicas muestreadas en las estaciones de primavera y verano y el contraste entre ambas estaciones.

Figura 19. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas en el Exterior en Primavera y Verano.



Se ha observado que existen diferencias significativas ($p= 0,013$), entre la carga fúngica de **exterior** encontrada en **primavera** y **verano**, siendo la suma de todas las cargas obtenidas para las diecisiete clínicas, superior en la estación de primavera (571UFC/m³) con respecto a la estación de verano (283UFC/m³).



Los valores para la mediana (UFC/m³) obtenidas para cada estación y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Valores de la mediana en exterior (UFC/m³) para primavera y verano.

PRUEBA	TOTAL EXTERIOR PRIMAVERA	TOTAL EXTERIOR VERANO
MEDIANA (UFC/m ³)	3	3

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para el contraste de las variables (**Tabla 13**).

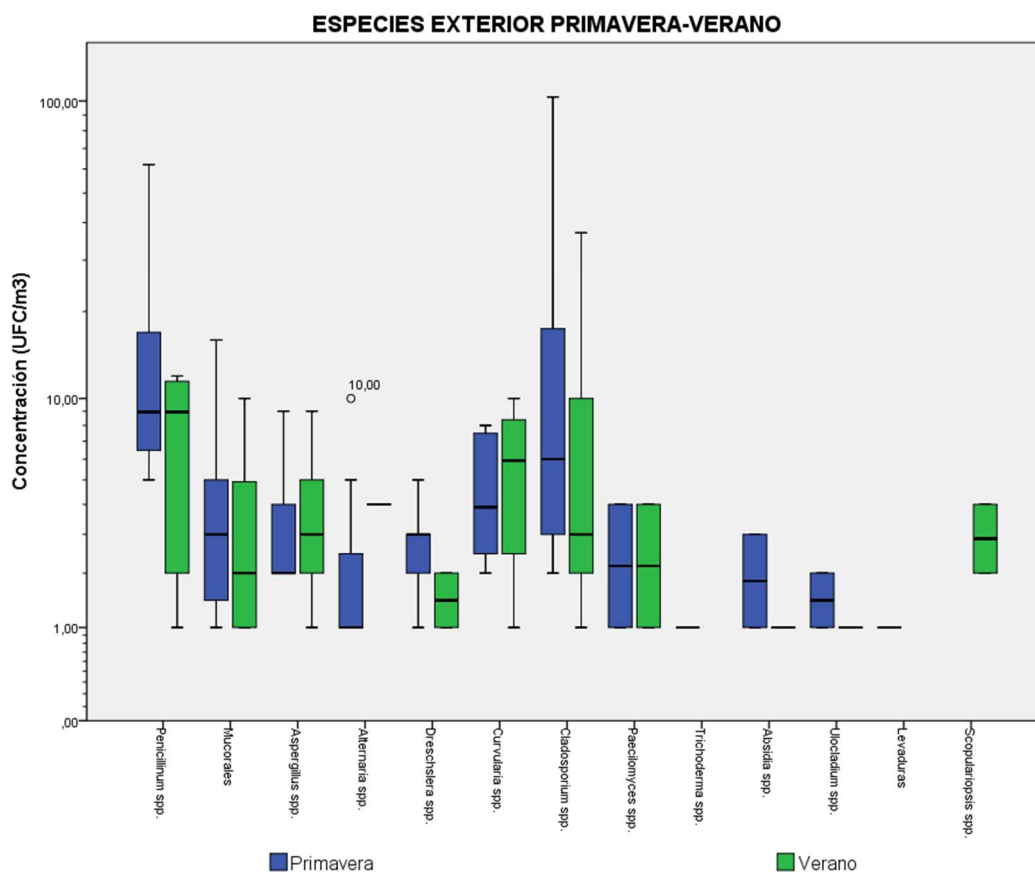
Tabla 13. Prueba estadística de contraste comparando las cargas totales en exterior para primavera y verano.

PRUEBA	U-Mann	W Wilcoxon	Sig. Asintótica (bilateral)
Total exterior (Primavera) vs Total exterior(Verano)	111,5	225,00	0,0130
Variable de agrupación: estación de muestreo			

5.1.2. Comparación de las especies de exterior. Primavera - Verano.

La **Figura 20** compara las once especies, orden Mucorales y Levaduras encontrados en el exterior de las clínicas en las dos estaciones, primavera y verano.

Figura 20. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) para cada una de las especies muestreadas en Exterior en primavera y verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se comparan los niveles de UFC/m³ encontrados en Exterior, en las 17 clínicas muestreadas, durante las estaciones de primavera y verano, para ninguno de las especies analizadas.

Los valores de la mediana para cada una de las especies se presentan en la **Tabla 14**. Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las variables (**Tabla 15**).



Tabla 14. Valores de la mediana por especies en exterior (UFC/m³) para primavera y verano en las clínicas analizadas.

FASE EXTERIOR		
ESPECIES	PRIMAVERA (UFC/m ³)	VERANO (UFC/m ³)
<i>Penicillium spp.</i>	9	9
Mucorales	3	2
<i>Aspergillus spp.</i>	1	-
<i>Cladosporium spp.</i>	2	3
<i>Alternaria spp.</i>	3	1,5
<i>Curvularia spp.</i>	4	6
<i>Drechslera spp.</i>	6	3
<i>Paecilomyces spp.</i>	2,5	2,5
<i>Trichoderma spp.</i>	1	n.d
<i>Absidia spp.</i>	2	1
<i>Ulocladium spp.</i>	1,5	1
Levaduras	1	n.d
<i>Scopulariopsis spp.</i>	n.d	3

n.d: < L.D por debajo del límite de detección

Tabla 15. Prueba estadística de contraste entre especies EXT primavera vs EXT verano

ESPECIES	Mann-Withney U	Valor p
<i>Penicillium spp.</i>	33,0	0,3
Mucorales	58,5	0,6
<i>Aspergillus spp.</i>	58,0	1,0
<i>Cladosporium spp.</i>	44,5	0,5
<i>Alternaria spp.</i>	n/a	n/a
<i>Curvularia spp.</i>	14,0	0,7
<i>Drechslera spp.</i>	n/a	n/a
<i>Paecilomyces spp.</i>	n/a	n/a
<i>Trichoderma spp.</i>	n/a	n/a
<i>Absidia spp.</i>	n/a	n/a
<i>Ulocladium spp.</i>	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis spp.</i>	n/a	n/a

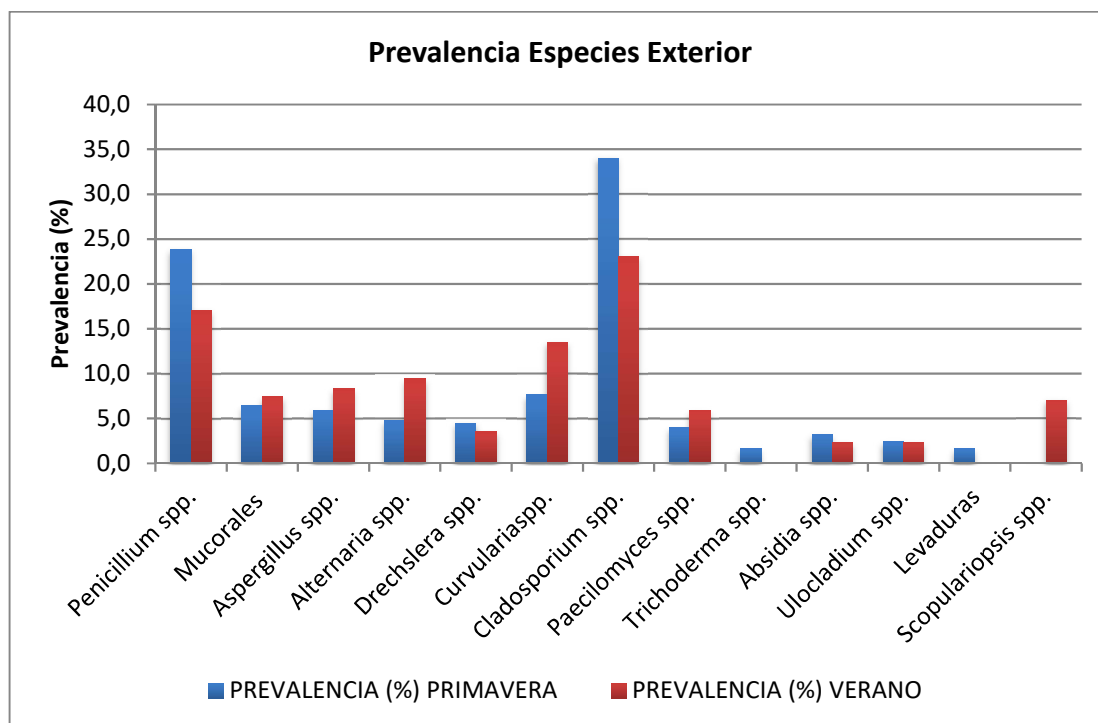
n/a: no aplicable

5.1.3. Estudio de prevalencia de las especies de exterior. Primavera-Verano

Se realiza un estudio de la prevalencia de las especies encontradas en exteriores para tratar de tener un mejor conocimiento acerca de la representatividad de cada especie respecto a la carga fúngica total, obtenida tanto en la estación de primavera como de verano.

La **Figura 21** muestra cuáles son las especies más prevalentes en las dos estaciones⁵. Los porcentajes y valores totales para cada especie se muestran en la **Tabla 16**.

Figura 21. Prevalencia de los trece especies encontrados en Exterior, entre primavera y verano.



⁵ Los resultados representados en la Figura 21 corresponden a la prevalencia de cada especie en el exterior (%), definida como el promedio de cada una de las especies encontradas en el exterior en todas las clínicas, en las estaciones de primavera y verano (primavera n=17; verano n=17).



Tabla 16. Concentración total para cada especie (UFC/m³) en la fase exterior de todas las clínicas y prevalencia (%) estacional de cada una de ellas.

ESPECIES	PRIMAVERA EXTERIOR		VERANO EXTERIOR		
	EXTERIOR PROMEDIO	PREVALENCIA (%)	PREVALENCIA (%)	EXTERIOR PROMEDIO	
<i>Cladosporium</i> spp	21,2	34,0	23,1	9,8	↓ VERANO
<i>Penicillium</i> spp.	14,8	23,8	17,1	7,3	↓ VERANO
<i>Curvularia</i> spp	4,8	7,6	13,5	5,8	↑ VERANO
Mucorales	4,0	6,4	7,5	3,2	↑ VERANO
<i>Aspergillus</i> spp	3,7	5,9	8,3	3,5	↑ VERANO
<i>Alternaria</i> spp	3,0	4,8	9,4	4,0	↑ VERANO
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,5	4,0	5,9	2,5	↑ VERANO
<i>Drechslera</i> spp	2,8	4,5	3,5	1,5	↓ VERANO
<i>Absidia</i> spp.	2,0	3,2	2,4	1,0	↓ VERANO
<i>Ulocladium</i> spp	1,5	2,4	2,4	1,0	
<i>Scopulariopsis</i> spp	nd	Nd	7,1	3,0	Ausente Primavera
<i>Trichoderma</i> spp	1,0	1,6	nd	nd	Ausente Verano
Levaduras	1,0	1,6	nd	nd	Ausente Verano
Total Especies (UFC/m ³)	62,2			42,5	

n.d.: < L_D por debajo del límite de detección.

Según los resultados del estudio de prevalencia (%) realizado en exterior se obtiene, por orden de representatividad, acorde con la **Tabla 16**:

- *Cladosporium* spp y *Penicillium* spp. son las especies más prevalentes tanto en primavera como en verano aunque disminuye su presencia en la estación de verano.
 - Primavera: *Cladosporium* spp.(34,0%) y *Penicillium* spp. (23,8%).
 - Verano: *Cladosporium* spp. (23,1%) y *Penicillium* spp. (17,1%).
- Le sigue un grupo de dos hongos, *Curvularia* spp.; Mucorales, *Aspergillus* spp.; *Alternaria* spp.; *Paecilomyces* spp. con una representatividad menor, situándose en un rango intermedio de representatividad (entre 13%-6%). Todas aumentan en la estación de verano.
- Posteriormente se sitúan *Drechslera* spp.; *Absidida* spp.; *Ulocladium* spp. (entre 4%-2%). Las dos primeras disminuyen en verano.
- Por último, con una representatividad muy inferior tendríamos al grupo formado por:

- *Scopulariopsis* spp., ausente en primavera y con un incremento en su representatividad de un 7% en verano.
- *Trichoderma* spp, ausente en verano y con un 2% en primavera.
- Levaduras, ausentes también en verano y con un 2% también en primavera.

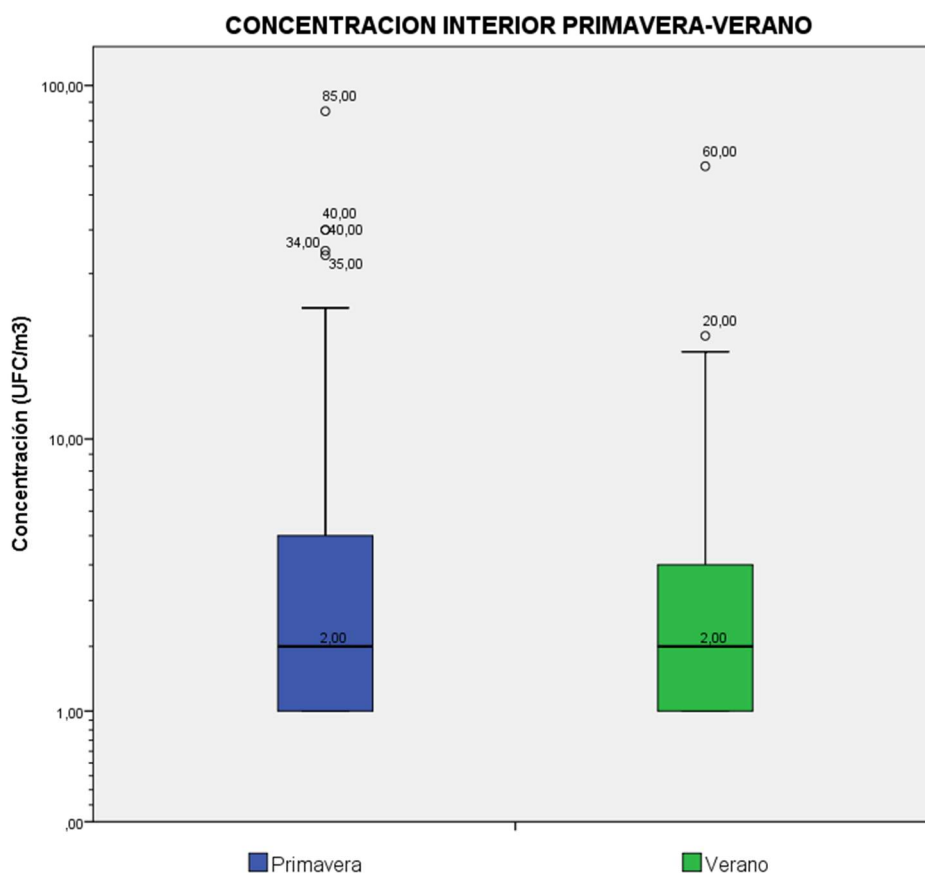
5.2. Estudio de la carga fúngica: INTERIOR.

5.2.1. Comparación carga fúngica total interior Primavera-Verano.

Se comparan las cargas obtenidas en el interior de las clínicas en la estación de primavera con las obtenidas en la estación de verano.

El gráfico de cajas de la **Figura 22** muestra la distribución de concentraciones obtenida para la carga fúngica interior de las clínicas muestreadas en las estaciones de primavera y verano y el contraste entre ambas estaciones.

Figura 22. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas en el Interior en Primavera y Verano.





No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas totales en interior entre primavera y verano ($p = 0,2625$).

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada estación y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 17**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para el contraste de las variables entre las clínicas (**Tabla 18**).

Tabla 17. Valores de la mediana en Interior (UFC/m³) para primavera y verano en las clínicas analizadas.

PRUEBA	TOTAL INTERIOR PRIMAVERA	TOTAL INTERIOR VERANO
MEDIANA (UFC/m ³)	2	2

Tabla 18. Prueba estadística de contraste comparando las cargas totales en interior para primavera y verano.

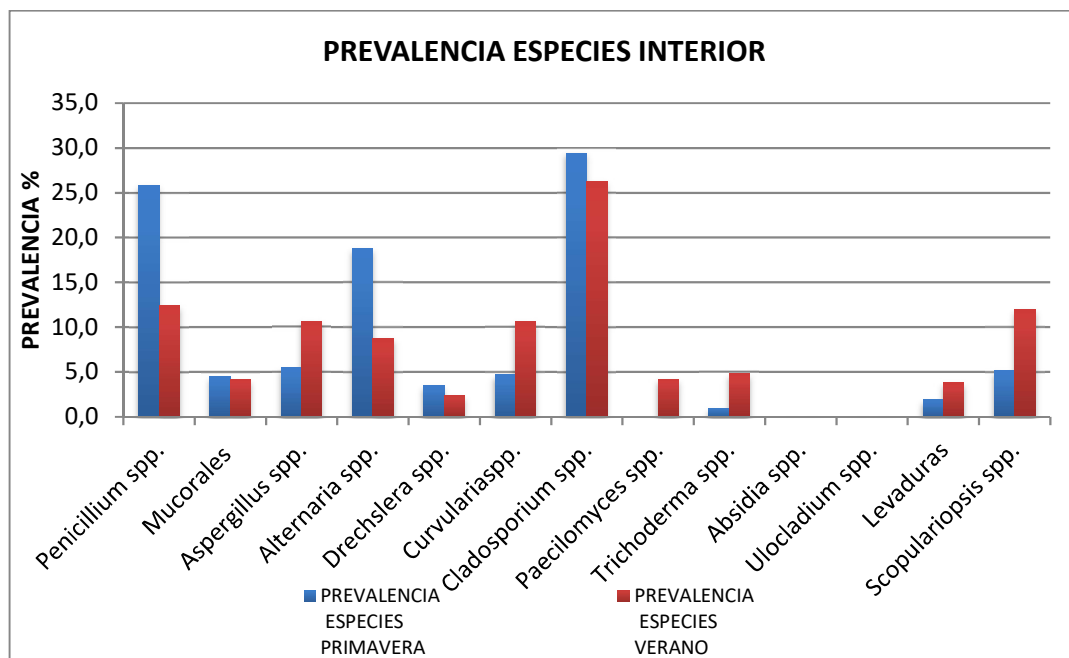
PRUEBA	U-Mann	Sig. Asintótica (bilateral)
Total Interior (Primavera) vs Total Interior (Verano)	111,5	0,2625

5.2.2. Estudio de prevalencia de las especies de interior. Primavera-Verano.

Se realiza un estudio de la prevalencia de las especies encontradas en interiores para tratar de tener un mejor conocimiento acerca de la representatividad de cada especie respecto a la carga fúngica total, obtenida tanto en la estación de primavera como de verano.

La Figura 23 muestra de forma gráfica cuáles son las especies más prevalentes en las dos estaciones⁶. Los porcentajes y valores totales para cada especie se muestran en la **Tabla 19**.

Figura 23. Estudio de la prevalencia de los 13 hongos de interior encontrados, contrastando los hongos encontrados en Interior (Primavera) con Interior (Verano).



⁶ Los resultados representados en la Figura 23 corresponden a la prevalencia de cada una de las trece especies de hongos encontradas en interior, definida como la concentración promedio (%) para cada una de las especies detectadas en las fases de interior para las estaciones de primavera y verano (primavera: n= 51; Interior verano n= 51).



Tabla 19. Concentración promedio (UFC/m³) para cada una de las especies encontradas en interior, en las diecisiete clínicas analizadas y prevalencia (%) de cada una de ellas en la estación de primavera y verano.

ESPECIES	PRIMAVERA INTERIOR		VERANO INTERIOR		
	PROMEDIO INTERIOR	PREVALENCIA (%)	PREVALENCIA (%)	PROMEDIO INTERIOR	
<i>Cladosporium</i> spp	10,5	29,4	26,2	7,3	↓ VERANO
<i>Penicillium</i> spp.	9,2	25,8	12,4	3,5	↓ VERANO
<i>Curvularia</i> spp	6,7	18,7	8,8	2,4	↓ VERANO
Mucorales	1,8	5,1	12,0	3,3	↑ VERANO
<i>Aspergillus</i> spp	1,7	4,7	10,6	3,0	↑ VERANO
<i>Alternaria</i> spp	1,9	5,4	10,7	3,0	↑ VERANO
<i>Paecilomyces</i> spp.	1,6	4,5	4,2	1,2	↓ VERANO
<i>Drechslera</i> spp	1,3	3,5	2,4	0,7	↓ VERANO
<i>Absidia</i> spp.	0,3	0,9	4,8	1,3	↓ VERANO
<i>Ulocladium</i> spp	0,7	1,9	3,8	1,1	↑ VERANO
<i>Scopulariopsis</i> spp	nd	nd	4,2	1,2	Ausente en primavera
<i>Trichoderma</i> spp	nd	nd	nd	nd	Ausente en primavera y verano
Levaduras	nd	nd	nd	nd	Ausente Verano
Total Especies (UFC/m ³)	35,3			28,4	

nd: < L_D por debajo del límite de detección.

Por los datos que aparecen reflejados en la **Tabla 19**, se obtienen los siguientes resultados:

- *Cladosporium* spp y *Penicillium* spp. son las especies más prevalentes en interior tanto en primavera como en verano, siendo inferior su representatividad en la estación de verano.
 - Primavera: *Cladosporium* spp. (29,4%) y *Penicillium* spp. (25,8%).
 - Verano: *Cladosporium* spp. (26,2%) y *Penicillium* spp. (12,4%).
- Le sigue una especie de hongos, *Alternaria* spp, con una representatividad menor y que disminuye el doble en la estación de verano.
- Con porcentajes menores se sitúan *Scopulariopsis* spp.; *Curvularia* spp. y *Aspergillus* spp. Las tres aumentan en la estación de verano.
- Mucorales y *Drechslera* spp, y *Trichoderma* spp. aparecen con un porcentaje muy bajo, disminuyendo todavía más en verano.



- Las levaduras son poco representativas en primavera (1,9%) pero aumenta su presencia en la estación de verano (3,8%) aunque, en general, lo hace en porcentaje muy bajos.
- *Paecilomyces* spp está ausente en la estación de primavera, pero sí se ha encontrado en la estación de verano. *Absidia* spp. y *Ulocladium* spp. no aparecen ni en primavera ni en verano.

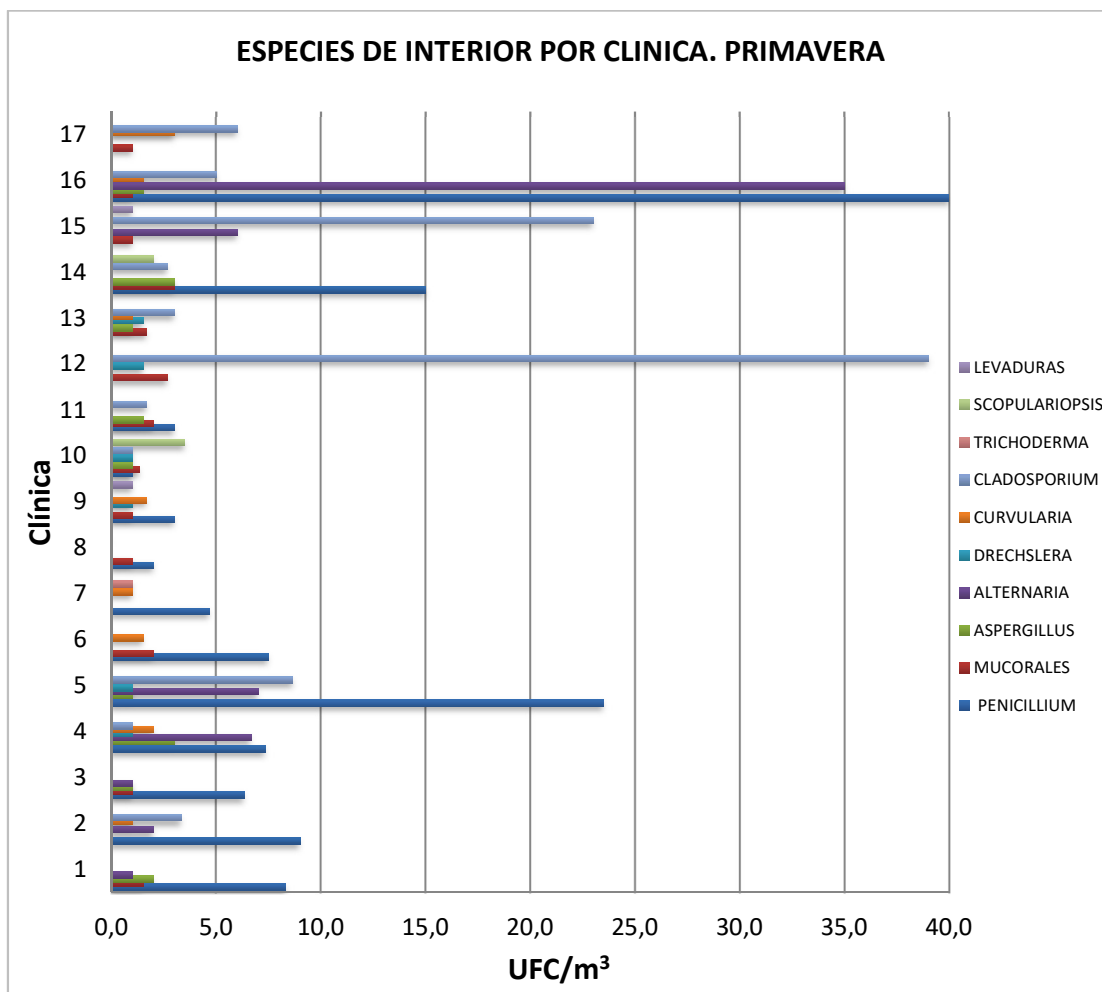
5.2.3. Análisis de las especies de interior por clínica. Primavera.

La **Figura 24** compara la concentración (UFC/m³) de cada una de las especies obtenidas en el interior de las diecisiete clínicas muestreadas, en la campaña de primavera⁷. Para la estimación de la concentración total interior se ha realizado el promedio de la concentración obtenida en los tres eventos de muestreo realizados en interiores (fases de pre actividad, actividad y post actividad), en cada una de las clínicas.

⁷ Los resultados representados en la Figura 24 corresponden a la carga total (UFC/m³) de cada una de las especies encontradas en el aire interior cada una de las diecisiete clínicas, determinada como el promedio de los tres muestreos realizados en interior (pre actividad, actividad y post actividad) en las clínicas, durante la campaña de primavera (n=51).



Figura 24. Gráfico que representa la concentración de cada especie por clínica. Estación de primavera.



En el interior de las clínicas se han encontrado ocho especies de hongos filamentosos y la orden de los Mucorales.

En la figura anteriormente expuesta se puede observar cómo no todas las especies son detectados en las diecisiete clínicas. Las especies con una concentración promedio más importante en los muestreos de interior, en la estación de primavera, son: *Penicillium* spp. con 130UFC/m³ y *Cladosporium* spp. con 94,3UFC/m³ seguido de *Alternaria* spp. con un 58,7UFC/m³

En la **Tabla 20** se muestran las concentraciones promedio, por clínica, de las distintas especies en interior que corresponden a la media de los tres muestreos.

En esta tabla se puede observar cómo los valores de concentración, por especies, más elevados se han obtenido en la clínica N°16 para las especies *Penicillium* spp. (40 UFC/m³) y *Alternaria* spp. (35 UFC/m³). En la clínica N°12 es en la que se ha obtenido el valor más elevado para *Cladosporium* spp. (39 UFC/m³)



Tabla 20. Concentración promedio de cada especie en la fase de Interior. Primavera.

PROMEDIO ESPECIE INTERIOR. PRIMAVERA.										
Clinica	<i>Penicillium</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Drechslera</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Scopulariopsis</i>	Levaduras
1	8,3	1,5	2	1						
2	9,0			2		1	3,3			
3	6,3	1	1	1						
4	7,3		3	6,7	1	2	1			
5	23,5		1	7	1		8,7			
6	7,5	2				1,5				
7	4,7					1		1		
8	2,0	1								
9	3,0	1			1	1,7				1
10	1,0	1,3	1		1		1		3,5	
11	3,0	2,0	1,5				1,7			
12		2,7			1,5		39			
13		1,7	1		1,5	1	3			
14	15	3	3				2,7		2	
15		1		6			23			1
16	40	1	1,5	35		1,5	5			
17		1				3	6			
TOTAL	130,7	20,2	15,0	58,7	7,0	12,7	94,3	1,0	5,5	2,0

Casillas sin datos: < L_D por debajo del límite de detección.

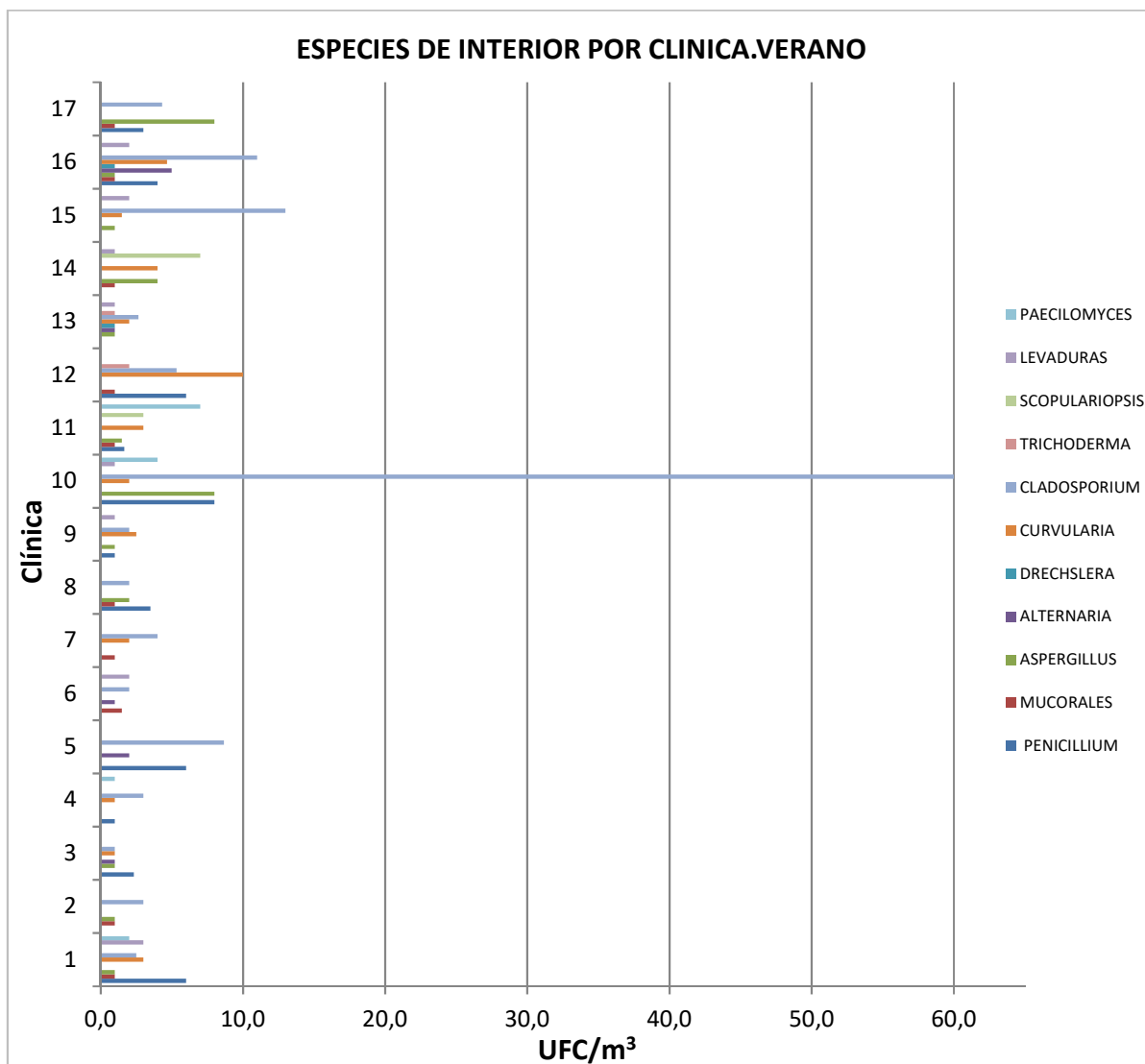
5.2.4. Análisis de las especies de interior por clínica. Verano.

La **Figura 25** compara la concentración (UFC/m³) de cada una de las especies obtenidas en el interior de las diecisiete clínicas muestreadas, en la campaña de verano⁸. Para la estimación de la concentración total interior se ha realizado el promedio de las concentración obtenida en los tres eventos de muestreo realizados en interiores (fases de pre actividad, actividad y post actividad), en cada una de las clínicas.

⁸ Los resultados representados en la Figura 25 corresponden a la carga total (UFC/m³) de cada una de las especies encontradas en el aire interior de cada una de las diecisiete clínicas, determinada como el promedio de los tres muestreos realizados en interior (pre actividad, actividad y post actividad) en las clínicas, durante la campaña de verano (n=51).



Figura 25. Gráfico que representa la concentración de cada especie por clínica. Estación de verano.



En el interior de las clínicas se han encontrado nueve especies de hongos filamentosos, orden de los Mucorales y Levaduras.

En la figura anteriormente expuesta se puede observar cómo no todas las especies son detectadas en las diecisiete clínicas. Las especies con una concentración promedio más importante en los muestreos de interior, en la estación de verano, son: *Cladosporium* spp. con 124,5UFC/m³ y *Penicillium* spp. con 42,5UFC/m³ seguidos de *Curvularia* spp. con 36,7UFC/ m³ y *Aspergillus* spp. con 30,5UFC/ m³.

En la **Tabla 21** se muestran las concentraciones de las distintas especies en interior que corresponden a la media de los tres muestreos y el porcentaje o frecuencia de aparición de cada especie con respecto a las diecisiete clínicas.



Tabla 21. Concentración promedio de cada especie en la fase de Interior. Verano.

PROMEDIO ESPECIES INTERIOR. VERANO											
	<i>Penicillium</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Drechslera</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Scopulariopsis</i>	Levaduras	<i>Paecilomyces</i>
1	6,0	1	1			3	2,5			3	2
2		1	1				3,0				
3	2,3		1	1		1	1				
4	1,0					1	3				1
5	6,0			2			8,7				
6		1,5		1			2			2	
7		1				2	4				
8	3,5	1	2				2				
9	1,0		1			2,5	2			1	
10	8,0		8			2	60			1	4
11	1,7	1,0	1,5			3			3		7
12	6	1,0				10	5,3	2			
13			1	1	1	2	2,7	1		1	
14		1	4			4			7	1	
15			1			1,5	13			2	
16	4	1	1	5	1	4,7	11			2	
17	3	1	8				4,3				
TOTAL	42,5	10,5	30,5	10,0	2,0	36,7	124,5	3,0	10,0	13,0	14,0

Casillas sin datos: < L_D por debajo del límite de detección.

En esta tabla se puede observar cómo los valores de concentración por especies más elevados se han obtenido en la clínica N° 10 con una concentración para *Cladosporium* spp. de 60 UFC/m³.

5.3. Estudio de la carga fúngica: POR CLINICA.

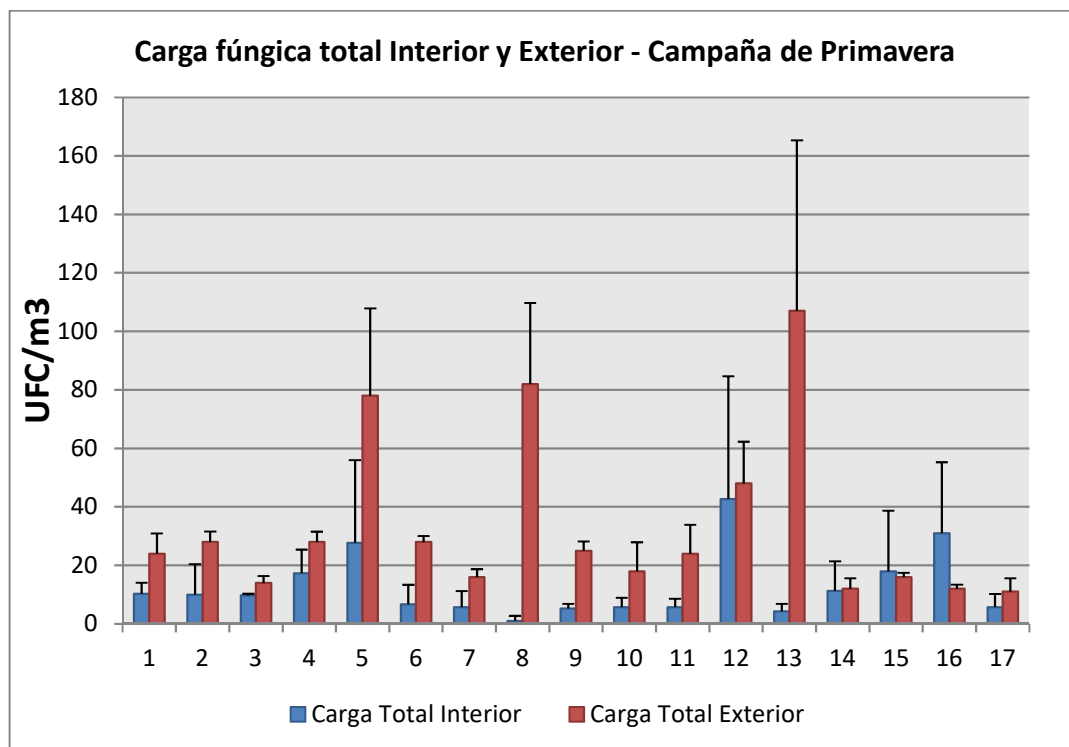
5.3.1. Campaña de primavera. Comparación Interior – Exterior.

La **Figura 26** compara la carga fúngica total determinada en el interior y exterior para cada clínica muestreada en la campaña de primavera⁹. Para la estimación de la carga total interior se ha realizado el promedio de las cargas totales obtenidas en los tres eventos de muestreo realizados en interiores (fases de pre actividad, actividad y post actividad), en cada una de las clínicas.

⁹ Los resultados representados en la figura 26 corresponden a la carga total (UFC/m³) definida como la suma de todas las especies encontradas en el muestreo de aire exterior en cada una de las clínicas muestreadas en primavera (n= 17), frente a la carga total en aire interior, determinada como el promedio de las cargas totales de los tres muestreos realizados en interiores (pre actividad, actividad y post actividad), en cada una de las clínicas muestreadas, en la campaña de primavera (n=51).



Figura 26. Carga fúngica total (UFC/m³) en interior y exterior en la campaña de primavera.



Como se puede observar en la Figura 26, con la excepción de dos clínicas (Nº 15 y 16) la carga fúngica total interior es inferior a la determinada en el exterior. En el primer caso las concentraciones son del mismo orden, con una diferencia más acusada en el segundo caso.

Los resultados de la carga fúngica total en exteriores y la carga fúngica interior promedio (junto con los resultados obtenidos en cada fase) se muestran en la **Tabla 22**.



Tabla 22. Valores de la concentración (UFC/m³) en interior y exterior por clínica, media y desviación estándar correspondientes a la Figura 26. Campaña de primavera.

Campaña de muestreo de Primavera					
CLINICA	Carga fúngica total por clínica y evento / fase de muestreo en interior (UFC/m ³)			Carga fúngica total Promedio Interior	Carga fúngica total Exterior
	Pre Actividad	Actividad	Post Actividad		
1	12	6	13	10,3	24
2	22	3	5	10,0	28
3	10	10	9	9,7	14
4	26	16	10	17,3	28
5	2	58	23	27,7	78
6	14	5	1	6,7	28
7	3	12	2	5,7	16
8	3	n.d	n.d	1,0	82
9	7	4	5	5,3	25
10	8	7	2	5,7	18
11	4	9	4	5,7	24
12	10	90	28	42,7	48
13	7	2	4	4,3	107
14	23	6	5	11,3	12
15	41	12	1	18,0	16
16	46	3	44	31,0	12
17	10	1	6	5,7	11

n.d: < L_D por debajo del límite de detección.

5.3.2. Campaña de primavera. Análisis por especies. Interior - Exterior.

A continuación se presenta la **Tabla 23** donde se exponen los valores de las concentraciones obtenidas para cada especie en interior y exterior en la estación de primavera.

Los valores de interior corresponden a la media de los valores obtenidos por cada una de las especies en la tres fases de muestreo de interior (pre actividad, actividad y post actividad).



Tabla 23. Concentración (promedio) de cada especie en la fase de Interior y exterior. Primavera.

	ESPECIES INTERIOR-EXTERIOR. PRIMAVERA																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>Penicillium</i> spp. INT	8,3	9,0	6,3	7,3	23,5	7,5	4,7	2	3	1	3			15		40	
<i>Penicillium</i> spp. EXT	16	13	7	7	18	5	8	62	10		21				6	5	
Mucorales INT	1,5		1,0			2,0		1,0	1,0	1,3	2,0	2,7	1,7	3,0	1,0	1,0	1,0
Mucorales EXT	1		2			5	3	5	5	16	1	3				2	1
<i>Aspergillus</i> spp. INT	2		1	3	1					1	1,5		1	3		1,5	
<i>Aspergillus</i> spp. EXT	2			2			2	7		2		4			3	2	9
<i>Alternaria</i> spp. INT	1	2	1	6,7	7										6	35	
<i>Alternaria</i> spp. EXT	5			10	1						1	1	1	1	4		
<i>Drechslera</i> spp. INT				1					1			1,5					
<i>Drechslera</i> spp. EXT		5	1						3			2	3				
<i>Curvularia</i> spp. INT		1	2,3	2		1,5	1		1,7				1			1,5	3
<i>Curvularia</i> spp. EXT		7	2	2		5		8	3					8		3	
<i>Cladosporium</i> spp. INT		3,3		1	8,7					1	1,7	39	3	2,7	23	5	6
<i>Cladosporium</i> spp. EXT		6		7	59	8	3		2		2	37	103	3	3		
<i>Scopulariopsis</i> spp. INT										3,5				2			
<i>Scopulariopsis</i> spp. EXT																	
<i>Paecilomyces</i> spp. INT																	
<i>Paecilomyces</i> spp. EXT		4	1														
<i>Trichoderma</i> spp. INT							1										
<i>Trichoderma</i> spp. EXT			1														
<i>Absidia</i> spp. INT																	
<i>Absidia</i> spp. EXT						3			1								
<i>Ulocladium</i> spp. INT																	
<i>Ulocladium</i> spp. EXT						2						1					
Levaduras INT									1						1		1
Levaduras EXT									1								1

Se puede observar cómo ninguna de las especies incumple la normativa o recomendaciones acerca de los valores límite de exposición a agentes biológicos detallado en el apartado 1.3.6.

En cuanto a criterios numéricos generales:

- Ninguna de las especies sobrepasa las 50 UFC/m³ (Health Canadá)
- Por lo tanto ninguna excede los valores criterio de 200 UFC/m³ propuestos por la NORMA UNE 171330:2

En cuanto a otro de los criterios que se menciona y que dice que no haya un porcentaje significativo de una o más especies de hongos en el aire interior que



no se hallen de forma similar en el aire exterior, se cumplen en la mayoría de las clínicas excepto en algún caso:

- Clínica N° 16, donde encontramos:
 - *Penicillium* spp con 40 UFC/m³ en INT y 5 UFC/m³ EXT
 - *Alternaria* spp. con 35 UFC/m³ en INT y n.d. UFC/m³ EXT
- Clínica N° 15, donde encontramos:
 - *Cladosporium* spp con 23 UFC/m³ en INT y 3 UFC/m³ EXT
- Clínica N° 14 , donde encontramos:
 - *Penicillium* spp con 15 UFC/m³ en INT y n.d. UFC/m³ EXT

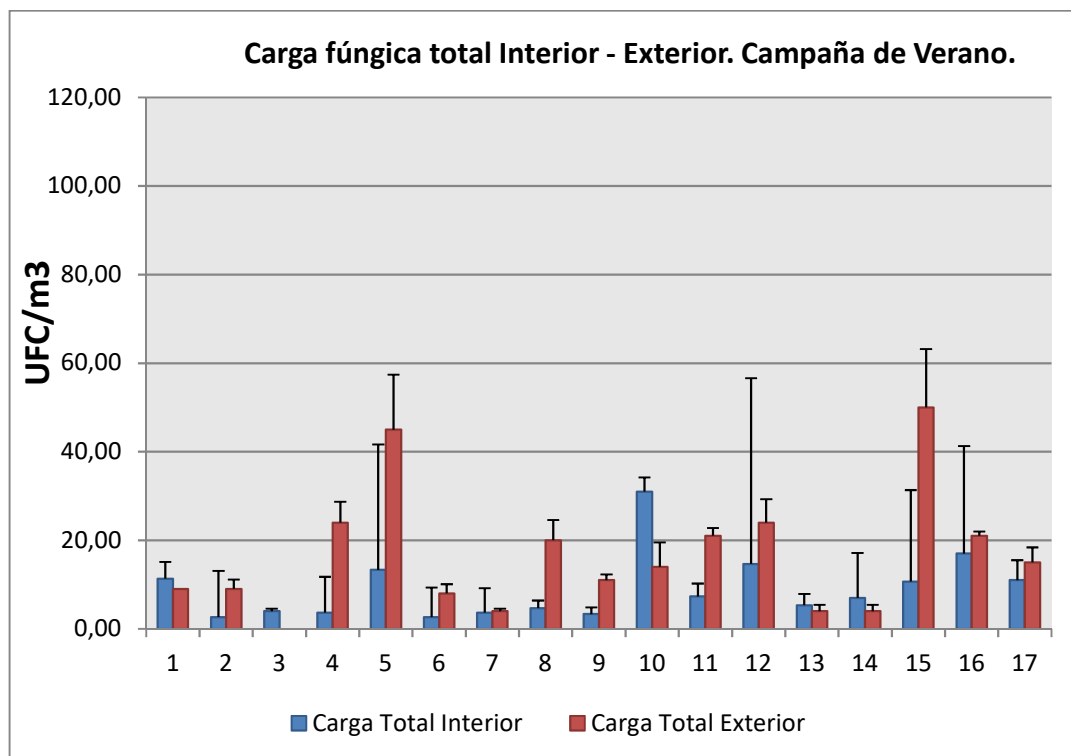
5.3.3. Campaña de verano. Comparación Interior – Exterior

La **Figura 27** compara la carga fúngica total determinada en el interior y exterior para cada clínica muestreada en la campaña de verano¹⁰. Para la estimación de la carga total interior se ha realizado el promedio de las cargas totales obtenidas en los tres eventos de muestreo realizados en interiores (fases de pre actividad, actividad y post actividad) en cada una de las clínicas.

¹⁰ Los resultados representados en la figura 27 corresponden a la carga total (UFC/m³) definida como la suma de todas las especies encontradas en el muestreo de aire exterior en cada una de las clínicas muestreadas en verano (n= 17) frente a la carga total del aire interior, determinada como el promedio de los tres muestreos realizados en interiores (pre actividad, actividad y post actividad), en cada una de las clínicas, en la estación de verano (n=51).



Figura 27. Carga fúngica total (UFC/m³) en interior y exterior en la campaña de verano.



Como se puede observar en la **Figura 27**, las cargas fúngicas tanto en interiores como exteriores en la campaña de verano son sensiblemente inferiores a las de primavera (ver Figura 26). En la campaña de verano se observan varias clínicas (Nº 1, 3, 10, 13 y 14) con resultados de carga total interior superiores al exterior, aunque en concentraciones del mismo orden. La clínica que muestra una diferencia más acusada en la Nº 10.

Los resultados de la carga fúngica total en exteriores y la carga fúngica interior promedio (junto con los resultados obtenidos en cada fase), para la campaña de verano, se muestran en la **Tabla 24**. Los valores promedio de interior señalados en color rojo son los detectados como superiores a los valores de exterior.



Tabla 24. Resultados de la carga total fúngica (UFC/m³) en interior y exterior por clínica. Campaña de verano.

Campaña de muestreo de Verano					
CLINICA	Carga fúngica total por clínica y evento / fase de muestreo en interior (UFC/m ³)			Carga fúngica total Promedio Interior	Carga fúngica total Exterior
	Pre Actividad	Actividad	Post Actividad		
1	19	6	9	11,3	9
2	5	n.d	3	2,7	9
3	4	4	4	4,0	nd
4	7	1	3	3,7	24
5	2	28	10	13,3	45
6	1	3	4	2,7	8
7	n.d	3	8	3,7	4
8	1	9	4	4,7	20
9	7	1	2	3,3	11
10	87	4	2	31,0	14
11	17	2	3	7,3	21
12	13	25	6	14,7	24
13	4	2	10	5,3	4
14	3	1	17	7,0	4
15	nd	25	7	10,7	50
16	13	11	27	17,0	21
17	14	18	1	11,0	15

n.d: < L_D por debajo del límite de detección.

5.3.4. Campaña de verano. Análisis por especies. Interior-Exterior.

A continuación se presenta la **Tabla 25** donde se exponen los valores de las concentraciones obtenidas para cada especie en interior y exterior en la estación de verano.

Los valores de interior corresponden a la media de los valores obtenidos por cada una de las especies en las tres fases de muestreo de interior (pre actividad, actividad y post actividad). En la fase de exterior se realizó una sola toma antes de comenzar la actividad de la clínica.



Tabla 25. Concentración (promedio) de cada especie en la fase de Interior y exterior, por clínica. Verano.

	TABLA CONCLUSIONES ESPECIES INTERIOR-EXTERIOR. VERANO																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>Penicillium</i> spp. INT	6		2,3	1	6			3,5	1	8	1,7	6				4	3
<i>Penicillium</i> spp. EXT					10			12		11	2	12			2	8	1
Mucorales INT	1	1				1,5	1	1			1	1		1		1	1
Mucorales EXT		6		10			1	3	2	1	4		1	1	2	6	1
<i>Aspergillus</i> spp. INT	1	1	1					2	1	8	1,5		1	4	1	1	8
<i>Aspergillus</i> spp. EXT	9	3		1		5	1	3	4	2		2		3	1	7	5
<i>Alternaria</i> spp. INT			1		2	1							1			5	
<i>Alternaria</i> spp. EXT															4		
<i>Drechslera</i> spp. INT													1			1	
<i>Drechslera</i> spp. EXT					1										2		
<i>Curvularia</i> spp. INT	3		1	1			2		2,5	2	3	10	2	4	1,5	4,7	
<i>Curvularia</i> spp. EXT				10	5			1			7						
<i>Cladosporium</i> spp. INT	2,5	3	1	3	8,7	2	4	2	2	60		5,3	2,7		13	11	4,
<i>Cladosporium</i> spp. EXT				3	29	2	2	1	3			10	3		37		8
<i>Scopulariopsis</i> spp. INT											3			7			
<i>Scopulariopsis</i> spp. EXT											4				2		
<i>Paecilomyces</i> spp. INT	2			1						4	7						
<i>Paecilomyces</i> spp. EXT									1		4						
<i>Trichoderma</i> spp. INT												2	1				
<i>Trichoderma</i> spp. EXT																	
<i>Absidia</i> spp. INT																	
<i>Absidia</i> spp. EXT									1								
<i>Ulocladium</i> spp. INT																	
<i>Ulocladium</i> spp. EXT						1											
Levaduras INT	3					2			1	1			1	1	2	2	
Levaduras EXT																	

Se puede observar cómo ninguna de las especies incumple la normativa o recomendaciones acerca de los valores límite de exposición a agentes biológicos, detallado en el apartado 1.3.6.

En cuanto a criterios numéricos generales:

- Ninguna de las especies sobrepasa las 50 UFC/m³ (Health Canadá), valor aplicable a todas las especies excepto a *Cladosporium* spp. o *Alternaria* spp. Por lo tanto, el valor de 60 UFC/m³ obtenido para *Cladosporium* spp. en la Clínica Nº 10, seguiría estando dentro de los estándares aplicables.



- Por lo tanto ninguna excede los valores criterio de 200 UFC/m³ propuestos por la NORMA UNE 171330:2

En cuanto a otro de los criterios que se menciona y que dice que no haya un porcentaje significativo de una o más especies de hongos en el aire interior que no se hallen de forma similar en el aire exterior, se cumplen en la mayoría de las clínicas excepto en algún caso:

- Clínica N° 10, donde encontramos:
 - *Cladosporium* spp. con 60 UFC/m³ en INT y 1 UFC/m³ EXT
- Clínica N° 12, donde encontramos:
 - *Curvularia* spp. con 23 UFC/m³ en INT y 3 UFC/m³ EXT
- Clínica N° 14, donde encontramos:
 - *Scopulariopsis* spp. con 7 UFC/m³ en INT y n.d. UFC/m³ EXT

Hay que destacar que, en verano, se observa la presencia de Levaduras en el interior de siete de las clínicas, cuando estas no han sido captadas en el exterior. Pero esta presencia es muy baja, ya que constituyen únicamente un 4,4% del total.

5.4. Análisis de la carga fúngica total: POR ESTACIONES.

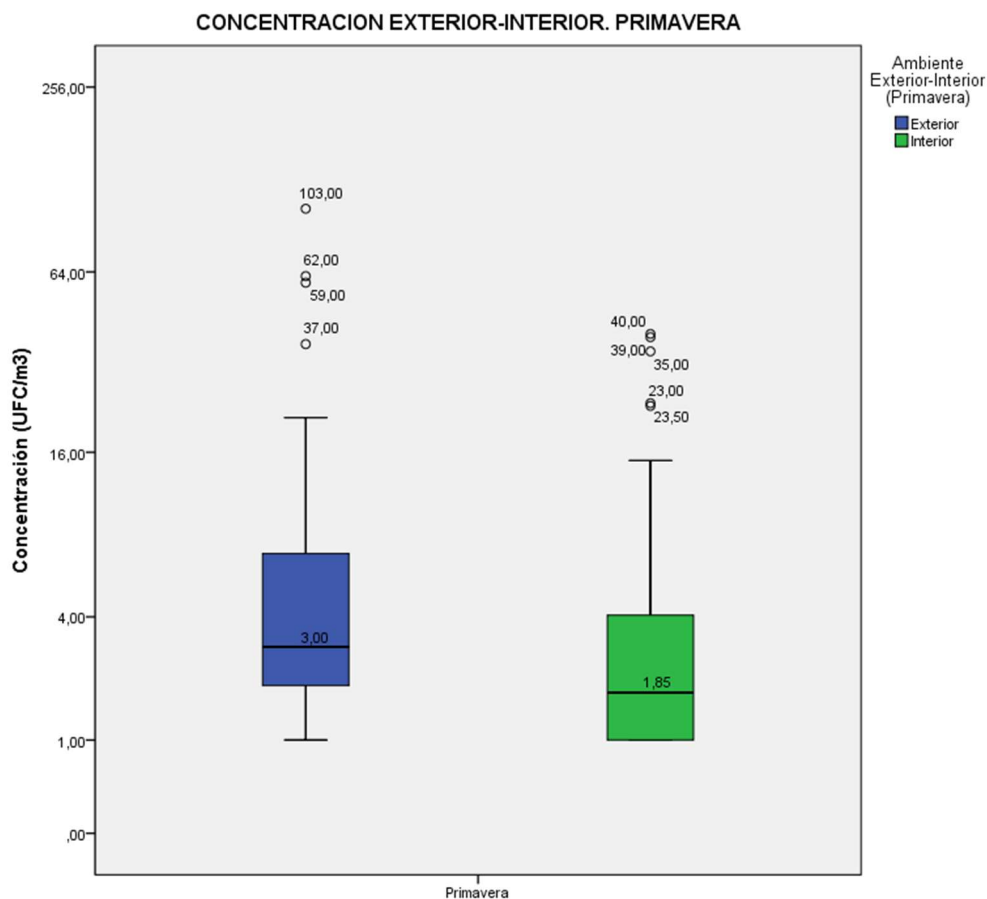
5.4.1. Campaña de primavera. Comparación entre Interior-Exterior

Se contrastan las cargas obtenidas en primavera en la fase de exterior con las cargas obtenidas en primavera en interior.

El gráfico de cajas de la **Figura 28** muestra la distribución de concentraciones obtenida para las cargas fúngicas interior y exterior de las clínicas muestreadas en la estación de primavera y el contraste entre ambos ambientes. En el diagrama también se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución.



Figura 28. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas en el Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en la estación de Primavera.



Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas fúngicas encontradas en Exterior e Interior para la estación de Primavera, siendo la carga exterior superior a la interior ($p = 0,0011$).

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada ambiente (interior y exterior), utilizadas en la estadística de contraste, se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 26**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para el contraste de las variables entre las clínicas (**Tabla 27**).

Tabla 26. Valores de la mediana (UFC/m³) en los ambientes Exterior e Interior de las clínicas analizadas en la estación de primavera.

	EXTERIOR PRIMAVERA	TOTAL INTERIOR PRIMAVERA
MEDIANA (UFC/m ³)	3	1,85

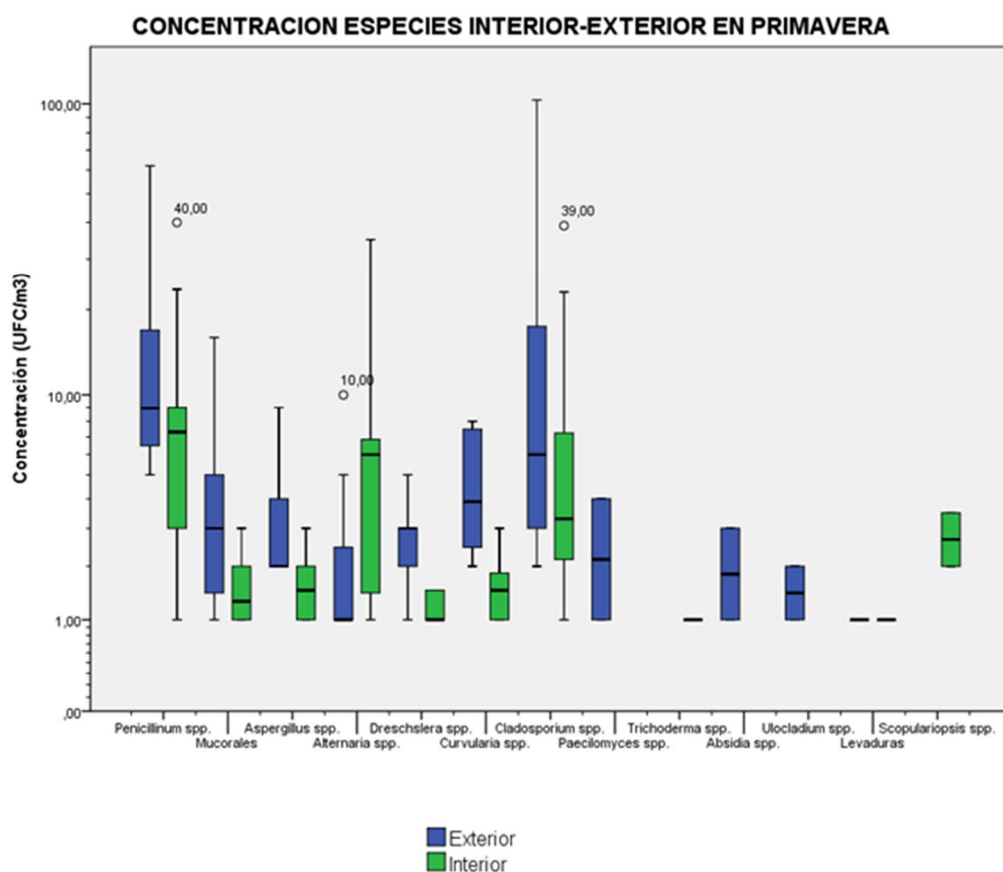
Tabla 27. Prueba estadística de contraste comparando Total Interior vs. Exterior. Estación primavera.

Prueba	U-Mann Whitney	Sig. Asintótica (bilateral)
Total Interior Primavera vs. Exterior Primavera	49,50	0,0011

5.4.2. Campaña de primavera. Análisis por especies. Comparativa Interior-Exterior

Mediante el gráfico de cajas que se presenta a continuación (**Figura 29**) se muestran las diferencias entre ambiente exterior e interior para cada una de las especies analizadas en la estación de primavera.

Figura 29. Diagrama de distribución de concentraciones entre ambientes Exterior e Interior para cada una de las especies (UFC/m³) en la estación de primavera.



Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan los niveles de UFC/m³ encontrados en Total Interior Primavera vs Exterior Primavera para los géneros *Penicillium* spp. ($p= 0,0029$); *Mucorales* ($p= 0,0005$); *Alternaria* spp. ($p=$



0,0105); *Aspergillus* spp. ($p= 0,0001$); *Dreschlera* spp. ($p= 0,0002$); *Curvularia* spp. (0,0001) y *Cladosporium* spp. ($p= 0,0159$).

Los valores de la mediana para cada una de las especies se presentan en la **Tabla 28**. Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 29**).

Tabla 28. Valores de la mediana en ambiente exterior e interior (UFC/m³) para cada una de las especies en la estación de primavera.

ESPECIES	EXTERIOR PRIMAVERA (mediana - UFC/m ³)	INTERIOR PRIMAVERA (mediana - UFC/m ³)
<i>Penicillium</i> spp.	9	7,3
Mucorales	3	1,3
<i>Alternaria</i> spp.	1	6
<i>Aspergillus</i> spp.	2	1,5
<i>Dreschlera</i> spp.	3	1
<i>Curvularia</i> spp.	4	1,5
<i>Cladosporium</i> spp.	6	3,3
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,5	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	n.d	1
<i>Absidia</i> spp.	2	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	1,5	n.d
Levaduras	1	1
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n.d	2,75

n.d: < L.D por debajo del límite de detección.

Tabla 29. Prueba estadística de contraste entre especies en ambiente exterior e interior. Estación de Primavera.

ESPECIES	Mann-Withney U	Valor p
<i>Penicillium</i> spp.	34,50	0,0029
Mucorales	19,50	0,0005
<i>Aspergillus</i> spp.	2,500	<0,0001
<i>Cladosporium</i> spp.	42,00	0,0159
<i>Alternaria</i> spp.	25,00	0,0105
<i>Curvularia</i> spp.	2,000	0,0001
<i>Drechslera</i> spp.	0,5000	0,0002
<i>Paecilomyces</i> spp.	n/a	n/a
<i>Trichoderma</i> spp.	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp.	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp.	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n/a	n/a

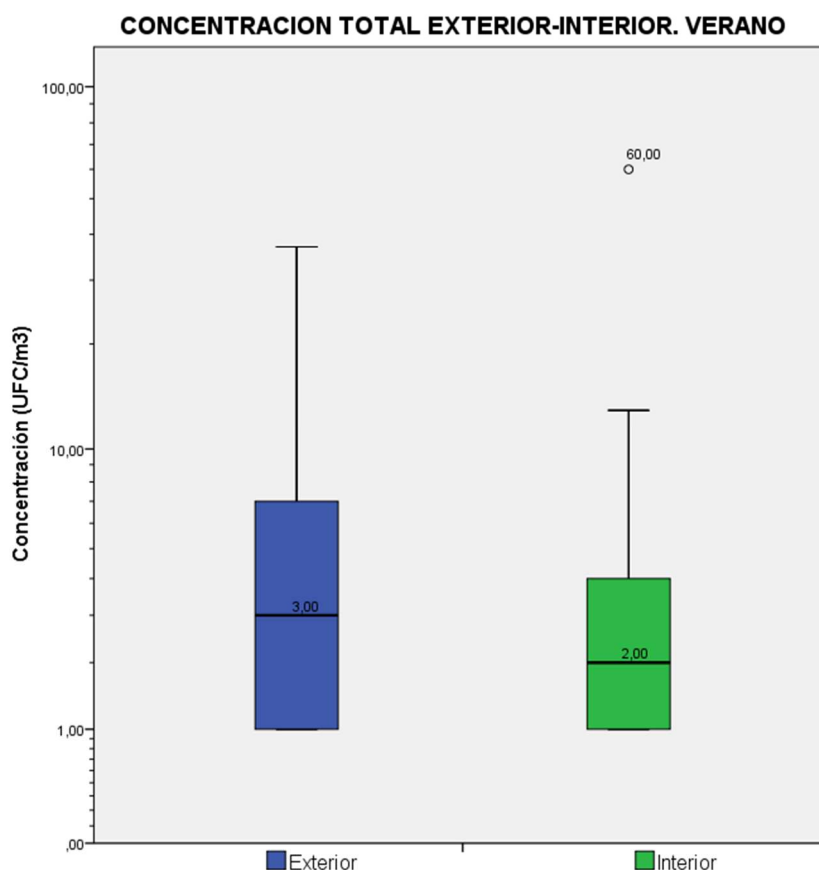
n/a: no aplicable. Pruebas estadísticas no disponibles por datos insuficientes en las especies.

5.4.3. Campaña de verano. Comparación entre Interior-Exterior

Se contrastan las cargas obtenidas en verano en la fase de exterior con las cargas obtenidas en interior.

El gráfico de cajas de la **Figura 30** muestra la distribución de concentraciones obtenida para las cargas fúngicas interior¹¹ y exterior de las clínicas muestreadas en la estación de verano y el contraste entre ambos ambientes. Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución.

Figura 30. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas en el Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en la estación de Verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas fúngicas encontradas en Exterior e Interior en la estación de verano ($p = 0,0535$).

¹¹ La carga fúngica interior ha sido determinada como el promedio de los tres muestreos realizados en interiores (pre actividad, actividad y post actividad) en cada una de las 17 clínicas para la estación de verano (Interior primavera: $n = 51$).



Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada ambiente (interior y exterior) y utilizadas en la estadística de contraste, se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 30**.

Se utilizó la prueba de U-Mann Withney para el contraste de las variables entre las clínicas (**Tabla 31**).

Tabla 30. Valores de la mediana (UFC/m³) en los ambientes Exterior e Interior de las clínicas analizadas en la estación de verano.

	EXTERIOR VERANO	TOTAL INTERIOR VERANO
MEDIANA (UFC/m ³)	3	2

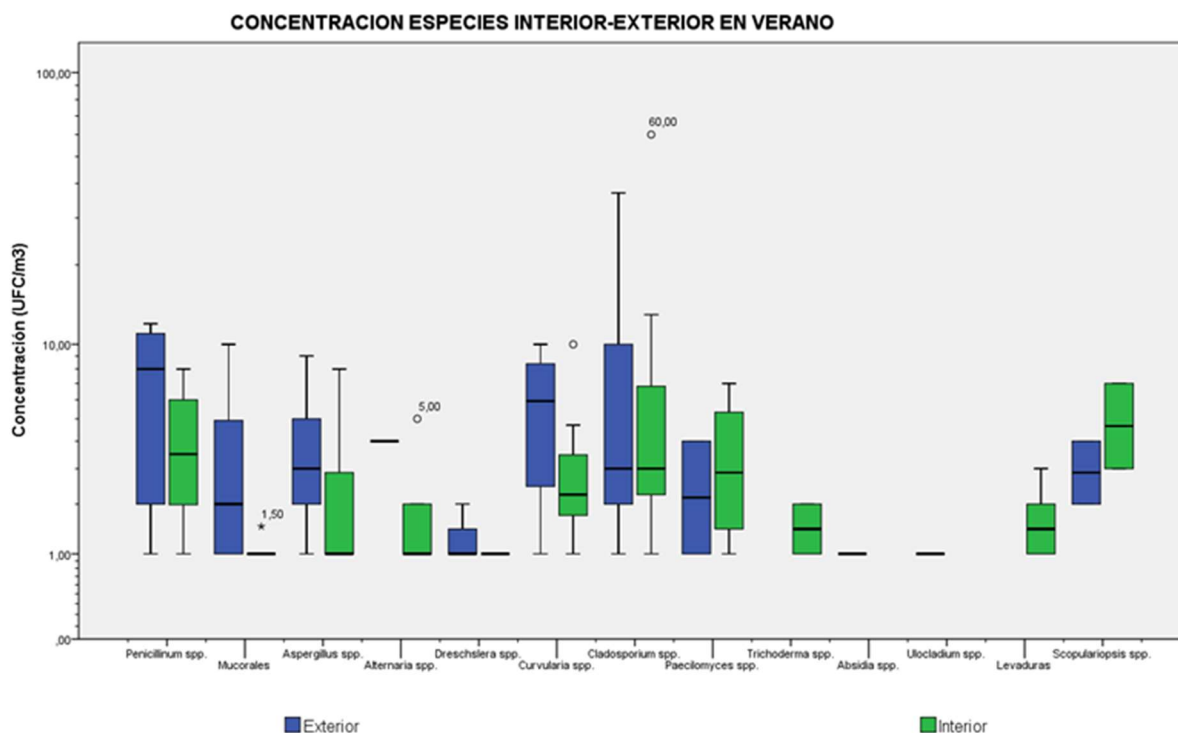
Tabla 31. Prueba estadística de contraste comparando Total Interior vs Exterior. Estación Verano.

Prueba	U-Mann Whitney	Sig. Asintótica (bilateral)
Total Interior Verano vs. Exterior Verano	88,00	0,0535

5.4.4. Campaña de verano. Análisis por especies. Comparativa Interior-Exterior.

Mediante el gráfico de cajas que se presenta a continuación (**Figura 31**) se muestran las diferencias entre ambiente exterior e interior para cada una de las especies analizadas en la estación de verano.

Figura 31. Diagrama de distribución de concentraciones entre ambientes Exterior e Interior para cada una de las especies (UFC/m³) en la estación de verano.



Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan los niveles de UFC/m³ encontrados en Total Interior Verano vs Exterior Verano para los géneros *Penicillium* spp. ($p= 0,0067$); *Mucorales* ($P<0,0001$); *Aspergillus* spp. ($p= 0,0004$); *Dreschlera* spp. ($p= 0,0284$); *Curvularia* spp. ($0,0175$) y *Scopulariopsis* spp. ($p= 0,0462$).

Los valores de la mediana para cada una de las especies se presentan en la **Tabla 32**. Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 33**).



Tabla 32. Valores de la mediana en ambiente exterior e interior (UFC/m³) para cada una de las especies en la estación de verano.

ESPECIES	EXTERIOR VERANO (mediana - UFC/m ³)	INTERIOR VERANO (mediana - UFC/m ³)
<i>Penicillium</i> spp.	8,8	3,5
Mucorales	2	1
<i>Aspergillus</i> spp.	4	1
<i>Cladosporium</i> spp	3	1
<i>Alternaria</i> spp.	1	1
<i>Curvularia</i> spp.	6	2,25
<i>Drechslera</i> spp.	3	3
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,5	3
<i>Trichoderma</i> spp.	n.d	1,5
<i>Absidia</i> spp.	1	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	1	n.d
Levaduras	n.d	1,5
<i>Scopulariopsis</i> spp.	3	5

n.d: < L.D por debajo del límite de detección.

Tabla 33. Prueba estadística de contraste entre especies en ambiente exterior e interior. Estación de Verano.

ESPECIES	Mann-Withney U	Valor p
<i>Penicillium</i> spp.	21,00	0,0067
Mucorales	2,500	<0,0001
<i>Aspergillus</i> spp.	25,50	0,0004
<i>Cladosporium</i> spp	51,00	0,0919
<i>Alternaria</i> spp.	n/a	n/a
<i>Curvularia</i> spp.	7,000	0,0175
<i>Drechslera</i> spp.	0,0000	0,0284
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,000	0,0541
<i>Trichoderma</i> spp.	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp.	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp.	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis</i> spp.	1,500	0,0462

n/a: no aplicable. Pruebas estadísticas no disponibles por datos insuficientes en las especies.

5.5. Análisis de la carga fúngica entre las cuatro fases de muestreo.

5.5.1. Comparación de la carga fúngica entre fases de muestreo (Verano)

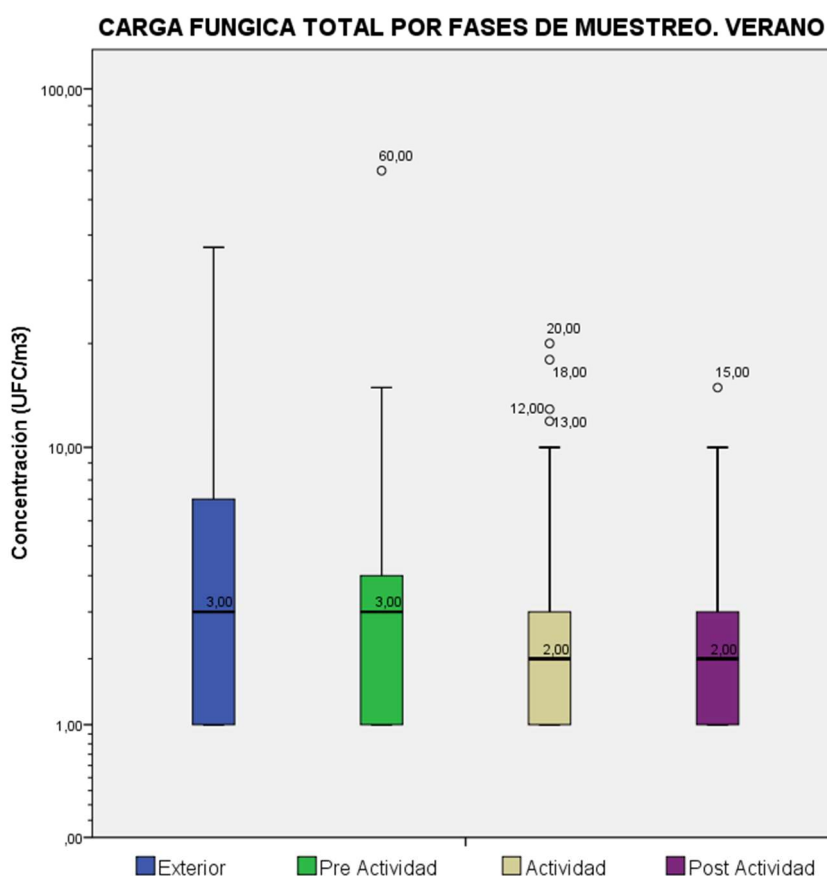
En este apartado se comparan de las cargas fúngicas obtenidas en la fase de exterior, con las tres fases de interior de manera independientemente (pre

actividad, actividad y post actividad) en la estación de verano, tanto para las cargas totales como por especies.

5.5.1.1. Análisis general: carga fúngica total

En primer lugar, en el gráfico de cajas de la **Figura 32**, se muestran las diferencias entre la carga fúngica del ambiente exterior frente a cada una de las fases de interior (pre-actividad, actividad y post-actividad) obtenidas en cada una de las clínicas analizadas en la estación de verano. Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución.

Figura 32. Distribución de concentraciones de la carga total fúngica (UFC/m³) contrastados entre cada una de las fases de muestreo. Estación de verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad para la estación de verano ($p=0,0540$). A pesar de que la concentración en el exterior es superior a las concentraciones detectadas en cada una de las fases de interior, esta diferencia no es suficientemente grande como para obtener un contraste significativo. Los ambientes entre las fases de interior y el exterior permanecen parecidos/estables durante la estación de verano.



Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las fases de muestreo y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 34**.

Las medianas fueron comparadas mediante el Test de Kruskal-Wallis y Test de comparación Múltiple de Dunn (**Tabla 35**).

Tabla 34. Valores de la mediana de la carga fúngica total (UFC/m³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de verano.

FASES MUESTREO	VERANO
	Mediana
Exterior	3
Pre Actividad	3
Actividad	2
Post Actividad	2

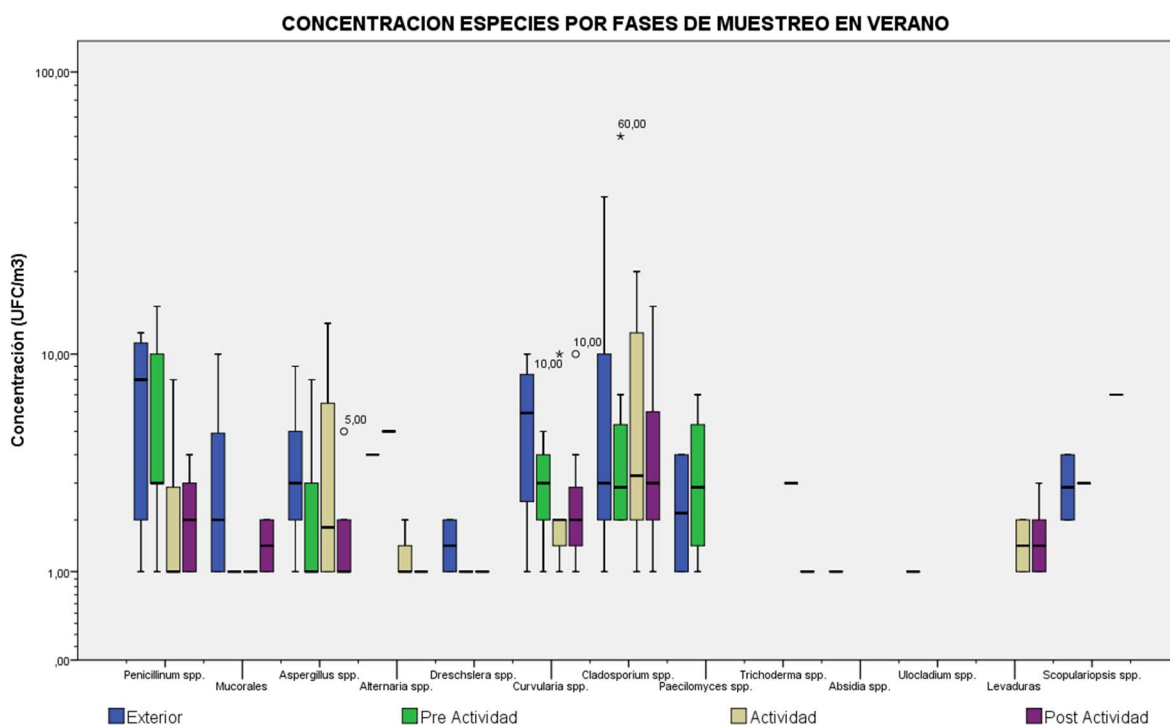
Tabla 35. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medianas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Verano.

Tabla de Análisis Estadístico	VERANO	
Test de Kruskal-Wallis		
P valor	0,0540	
Valor exacto o aproximado de P?	Gaussian Approximation	
Resuman P valor	Ns	
La variación de las medianas es significatva(P < 0.05)	No	
Número de grupos	4	
Estadístico de Kruskal-Wallis	7,644	
Test de Comparación múltiple de Dunn's	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?
EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD	14,53	No
EXTERIOR vs ACTIVIDAD	16,06	No
EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD	15,06	No
PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD	1,529	No
PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD	0,5294	No
ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD	-1,000	No

5.5.1.2. Análisis específico: por especies

En segundo lugar, en el gráfico de cajas de la **Figura 33**, se realiza un análisis de contraste pormenorizado, por especies, entre las diferentes fases de muestreo (exterior, pre actividad, actividad, post actividad) en la estación de verano.

Figura 33. Distribución de concentraciones de las 11 especies, orden Mucorales y Levaduras detectadas (UFC/m³) en cada una de las fases de muestreo. Estación de verano.



Los valores de la mediana para cada una de las especies se presentan en la **Tabla 36**. Las medianas fueron comparadas mediante el Test de Kruskal-Wallis y el Test post Dunn (**Tabla 37**).

Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad para las especies del orden Mucorales ($p = 0,0325$ – Kruskal-Wallis). No obstante, no se ha observado diferencias significativas entre ninguna fase de muestreo concreta para esta especie.

Para los demás géneros no se observan diferencias significativas cuando se contrastan las cuatro fases de muestreo entre sí.



Tabla 36. Valores de la mediana de cada especie (UFC/m³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de verano.

ESPECIES VERANO	EXTERIOR	PRE ACTIVIDAD	ACTIVIDAD	POST ACTIVIDAD
Mediana (UFC/m³) – Estación de Verano				
<i>Penicillium</i> spp.	8	3	1	2
Mucorales <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>)	2	1	1	1,5
<i>Aspergillus</i> spp.	3	1	2	1
<i>Alternaria</i> spp.	4	5	1	1
<i>Drechslera</i> spp.	1,5	1	1	n.d
<i>Curvularia</i> spp.	6	3	2	2
<i>Cladosporium</i> spp.	3	3	3,5	3
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,5	3	n.d	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	n.d	n.d	3	1
<i>Absidia</i> spp.	1	n.d	n.d	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	1	n.d	n.d	n.d
Levaduras	n.d	n.d	1,5	1,5
<i>Scopulariopsis</i> spp.	3	3	n.d	7

n.d: no detectado



Evaluación del Bioaerosol Fúngico presente en el aire interior de las Clínicas de Podología en la Comunidad de Madrid.
Hongos filamentosos y Levaduras.

Tabla 37. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medias obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Verano para cada una de las especies analizadas.

ESPECIES	Kruskal-Wallis	Es el test de Comparación Multiple Dunn's Significativo? $P < 0.05$?
Penicillium spp.	(p valor) = 0,1069 Estadístico= 6,099	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Mucorales (Mucor, Rhizopus)	(p valor) = 0,0325 Estadístico= 8,769	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Aspergillus spp.	(p valor) = 0,3408 Estadístico= 3,349	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Alternaria spp.	(p valor) = 0,2468 Estadístico= 4,140	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Curvularia spp.	(p valor) = 0,4908 Estadístico= 2,415	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Cladosporium spp.	(p valor) = 0,8588 Estadístico= 0,7609	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns
		EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns
		PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
		ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
RESTO DE ESPECIES	****	****

**** El análisis estadístico para *Drechslera* spp.; *Paecilomyces* spp.; *Trichoderma* spp.; *Absidia* spp.; *Ulocladium* spp.; Levaduras y *Scopulariopsis* spp. no se pudo realizar por número de datos insuficiente.
ns= no significativo



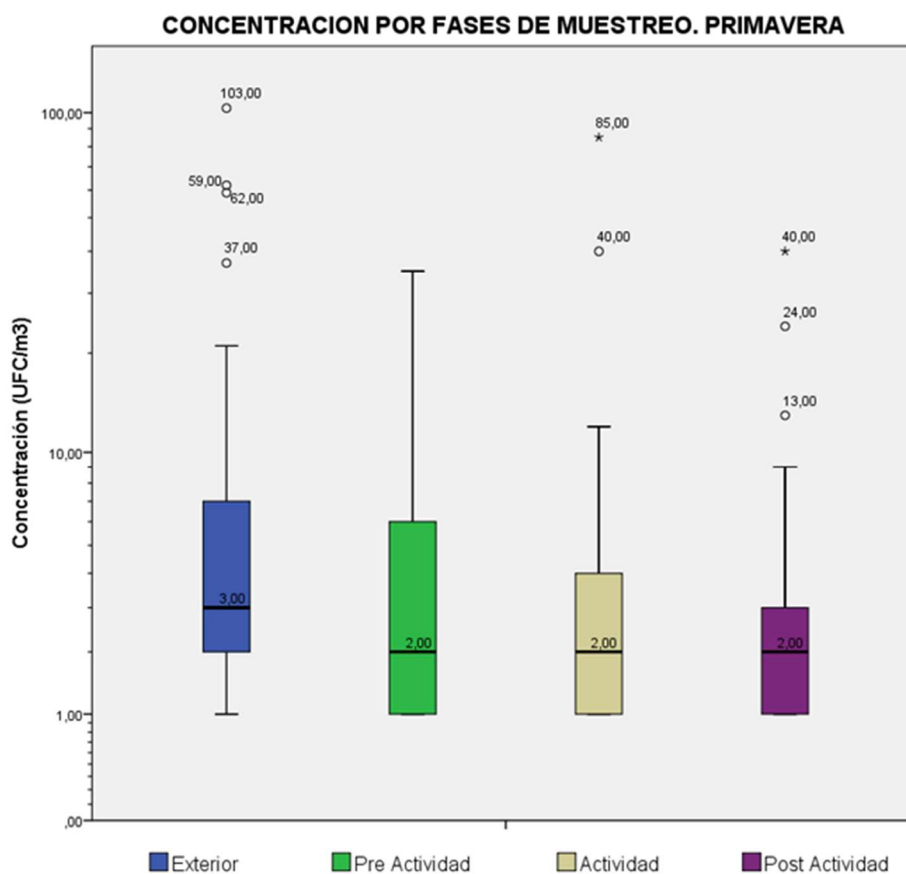
5.5.2. Comparación de la carga fúngica entre fases de muestreo (Primavera)

En este apartado se comparan de las cargas fúngicas obtenidas en la fase de exterior, con las fases de pre actividad, actividad y post actividad en la estación de primavera, tanto para las cargas totales como por especies.

5.5.2.1. Análisis general: carga fúngica total

En primer lugar, en el gráfico de cajas de la **Figura 32**, se muestran las diferencias entre la carga fúngica del ambiente exterior frente a cada una de las fases de interior (pre-actividad, actividad y post-actividad) obtenidas en cada una de las clínicas analizadas en la estación de primavera. Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución.

Figura 34. Distribución de concentraciones de la carga fúngica (UFC/m³) contrastados entre cada una de las fases de muestreo. Estación de primavera.





Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad para la estación de Primavera ($p=0,0001$).

En concreto para los contrastes entre:

- EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ($p= <0,05$)
- EXTERIOR vs ACTIVIDAD ($p=<0,01$)
- EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ($p=<0,001$)

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las fases de muestreo y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 38**.

Las medianas fueron comparadas mediante el Test de Kruskal-Wallis y Test de comparación Múltiple de Dunn (**Tabla 39**).

Tabla 38. Valores de la mediana de la carga fúngica (UFC/m³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de primavera.

FASES MUESTREO	VERANO
	Mediana
Exterior	3
Pre Actividad	2
Actividad	2
Post Actividad	2

Tabla 39. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medias obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Primavera.

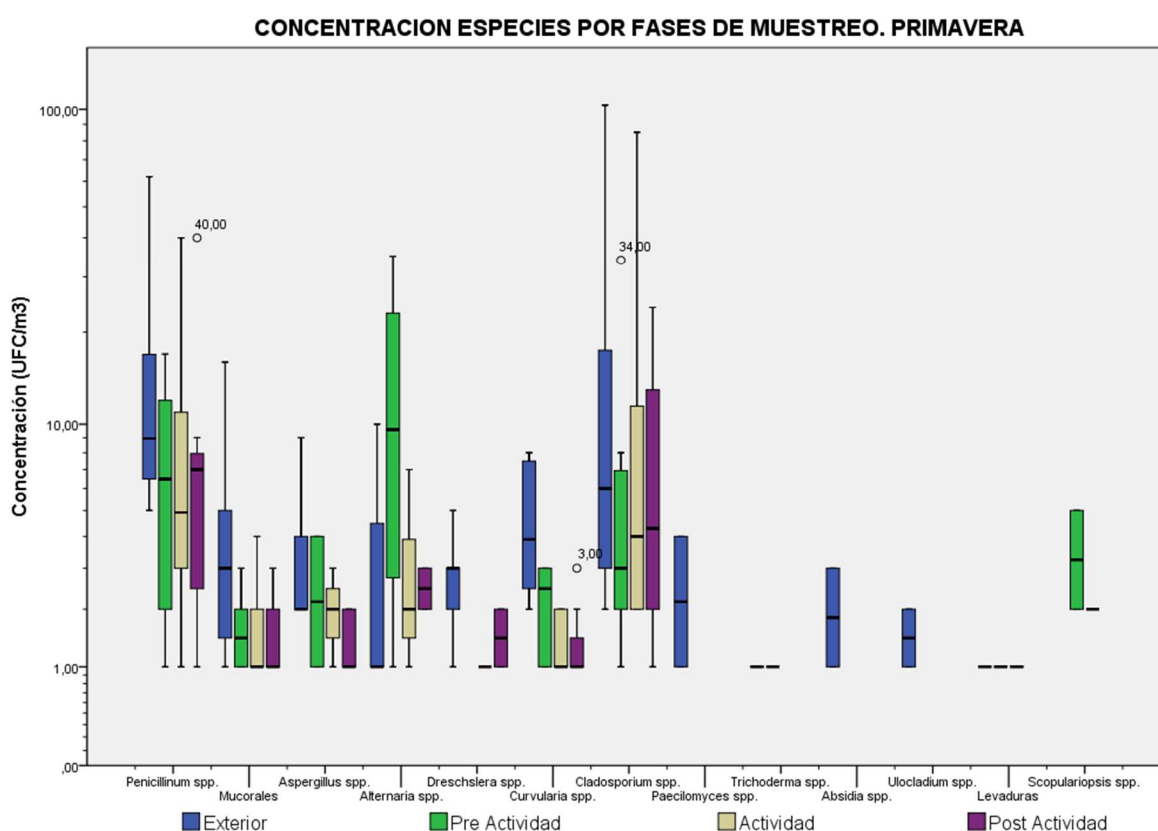
Tabla Análisis de Datos	PRIMAVERA	
Test de Kruskal-Wallis		
P valor	0,0001	
Valor exacto o aproximado de P?	Gaussian Approximation	
Resuman de P valor	***	
Son las medianas de P significativas (P < 0.05)	Yes	
Numero de grupos	4	
Test de Kruskal-Wallis	21,04	
Test de Comparación Múltiple de Dunn's	Difference in rank sum	Significant? P < 0.05?
EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD	18,06	< 0,05
EXTERIOR vs ACTIVIDAD	25,32	< 0,01
EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD	28,26	< 0,001
PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD	7,265	No
PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD	10,21	No
ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD	2,941	No



5.5.2.2. Análisis específico: por especies

En segundo lugar, en el gráfico de cajas de la **Figura 35**, se realiza un análisis de contraste pormenorizado por especies, entre las diferentes fases de muestreo (exterior, pre actividad, actividad, post actividad) en la estación de primavera.

Figura 35. Distribución de concentraciones de las 11 especies, orden Mucorales y Levaduras, detectadas (UFC/m³) en cada una de las fases de muestreo. Estación de primavera.



Los valores de la mediana para cada una de las especies se presentan en la **Tabla 40**. Las medianas fueron comparadas mediante el Test de Kruskal-Wallis y el Test post Dunn (**Tabla 41**).

Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las medianas de las concentraciones obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad para las especies:



- *Aspergillus* spp. ($p < 0.05$) para el contraste entre EXTERIOR vs. POST ACTIVIDAD.
- *Curvularia* spp. ($p = 0,0058$) para el contraste entre (i) EXTERIOR vs. ACTIVIDAD y (ii) EXTERIOR vs. POST ACTIVIDAD.

Para las demás especies, no se observan diferencias significativas cuando se contrastan las cuatro fases de muestreo entre sí.

Tabla 40. Valores de la mediana de cada especie (UFC/m³) para cada fase de muestreo (exterior, pre actividad, actividad y post actividad) de las clínicas analizadas en la estación de primavera.

ESPECIES VERANO	EXTERIOR	PRE ACTIVIDAD	ACTIVIDAD	POST ACTIVIDAD
Mediana (UFC/m³) – Estación de Primavera				
<i>Penicillium</i> spp.	9	6,5	5	7
Mucorales <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>)	3	1,5	1	1
<i>Aspergillus</i> spp.	2,5	2	2	1
<i>Alternaria</i> spp.	1	10,5	2	2,5
<i>Drechslera</i> spp.	3	n.d	1	1,5
<i>Curvularia</i> spp.	4	2,5	1	1
<i>Cladosporium</i> spp.	6	3	4	4,5
<i>Paecilomyces</i> spp.	2,5	n.d	n.d	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	1	1	n.d	n.d
<i>Absidia</i> spp.	2	n.d	n.d	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	1,5	n.d	n.d	n.d
Levaduras	1	1	1	n.d
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n.d	3	2	n.d

n.d: no detectado



Tabla 41. Prueba estadística de contraste entre las cuatro medianas obtenidas en exterior, pre actividad, actividad y post actividad en la estación de Primavera para cada una de las especies analizadas.

ESPECIES	Kruskal-Wallis	Dunn's Multiple Comparison Test Significant? P<0.05?
Penicillium spp.	(p valor) = 0,2960 Estadístico= 3,698	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Mucorales (Mucor, Rhizopus)	(p value) = 0,1175 Estadístico= 5,883	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Aspergillus spp.	(p value) = 0,0536 Estadístico= 7,658	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD SI PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Alternaria spp.	(p value) = 0,3753 Estadístico= 3,108	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Curvularia spp.	(p value) = 0,0058 Estadístico= 12,51	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD SI EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD SI PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
Cladosporium spp.	(p value) = 0,5770 Estadístico= 1,978	EXTERIOR vs PRE ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs ACTIVIDAD ns EXTERIOR vs POST ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs ACTIVIDAD ns PRE ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns ACTIVIDAD vs POST ACTIVIDAD ns
RESTO DE ESPECIES	****	****

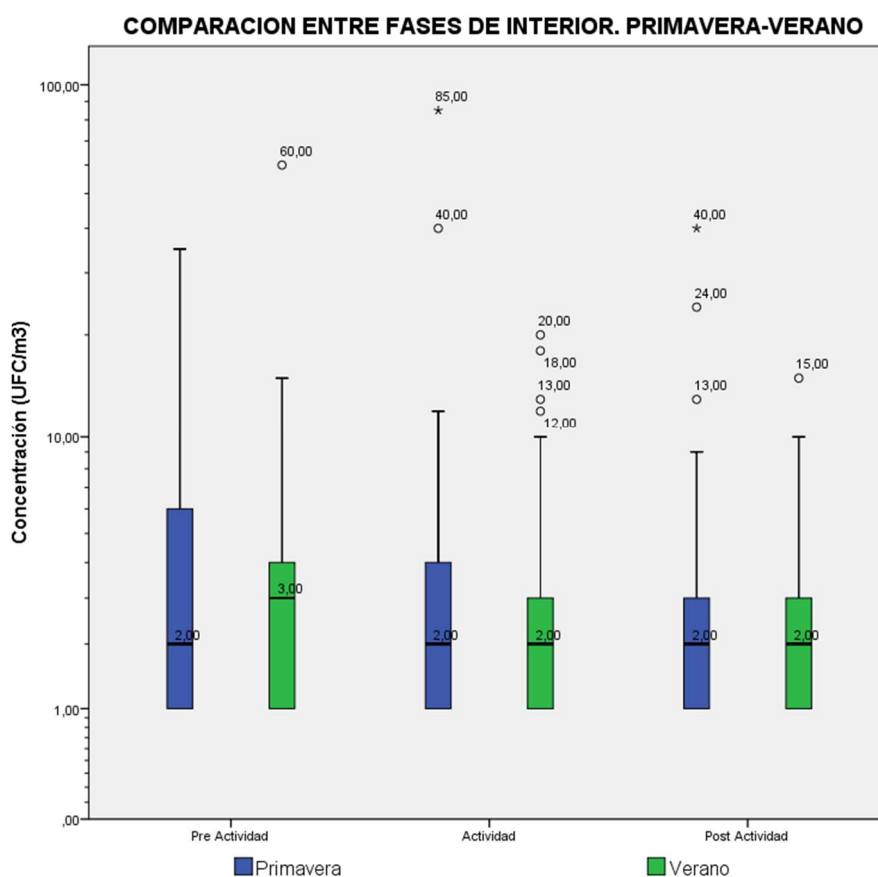
**** El análisis estadístico para *Drechslera* spp; *Paecilomyces* spp; *Trichoderma* spp; *Absidia* spp; *Ulocladium* spp; Levaduras y *Scopulariopsis* spp no se pudo realizar por número de datos insuficiente.
ns= no significativo

5.6. Análisis entre FASES DE INTERIOR. Primavera - Verano

5.6.1. Análisis general: carga fúngica total

El gráfico de cajas de la **Figura 36** compara la carga fúngica encontrada en las fases de muestreo realizadas en el interior de las clínicas (pre actividad, actividad y post actividad) para cada una de las estaciones muestreadas (primavera-verano). Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución de datos.

Figura 36. Distribución de concentraciones de la carga fúngica (UFC/m³) para cada una de las fases de muestreo interior de las clínicas en primavera y verano.



No se han encontrado diferencias significativas al comparar las cargas encontradas en las fases de pre actividad, actividad y post actividad comparando las estaciones de primavera y verano. No obstante, de forma general, fueron algo más elevadas las cargas en la estación de primavera. y disminuyen a lo largo de la jornada labnoral.



Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las fases de muestreo y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 42**.

Tabla 42. Valores de la mediana de la carga fúngica (UFC/m³) para cada fase de muestreo interior (pre actividad, actividad y post actividad) en primavera y verano.

FASES MUESTREO	PRIMAVERA	VERANO
	Mediana (UFC/m ³)	
Pre Actividad	2	3
Actividad	2	2
Post Actividad	2	2

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las medianas en cada fase de muestreo interior, entre las dos estaciones (**Tabla 43**).

Tabla 43. Análisis estadístico de la carga fúngica total para cada fase de muestreo interior en las estaciones de primavera y verano.

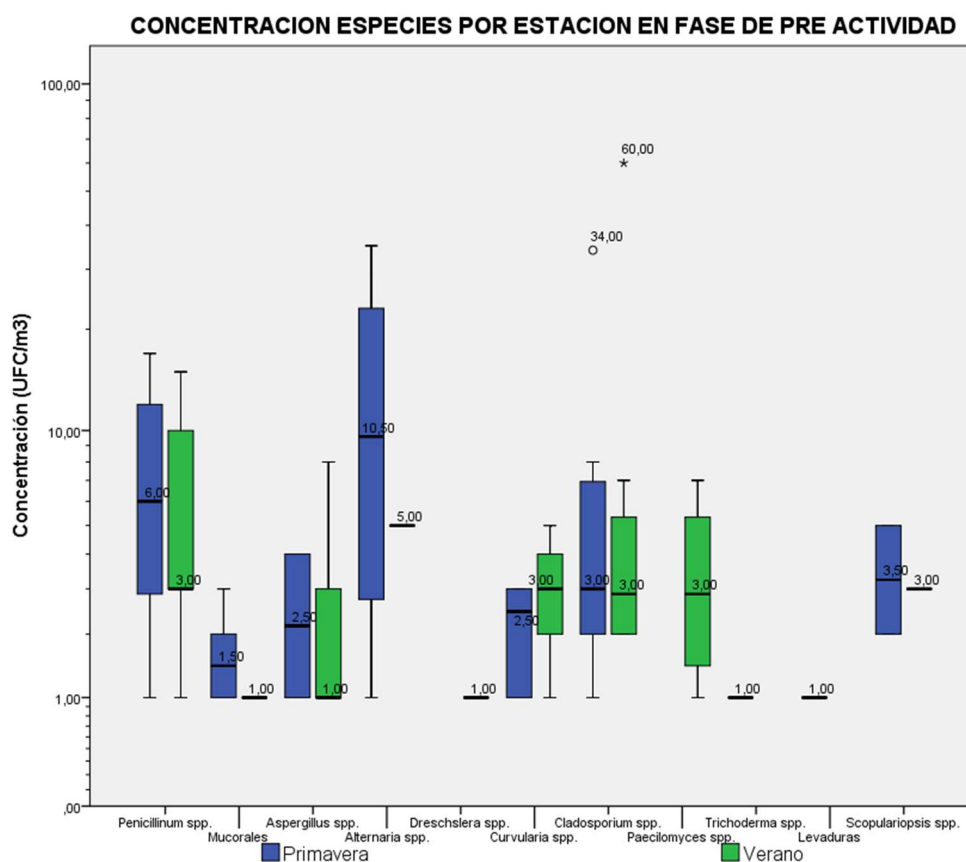
PRUEBA	U-Mann	W Wilcoxon	Sig.Asintótica (bilateral)
Pre actividad P vs. Pre actividad V	98,00	251,000	0,1124
Actividad P vs. Actividad V	119,500	272,500	0,3975
Post actividad P vs. Post actividad V	141,000	294,000	0,4587
Variable de agrupación: estación de muestreo			

V= verano; P = primavera

5.6.2. Análisis por especies: fase de pre actividad

El gráfico de cajas de la **Figura 37** compara las especies encontradas en la fase de pre actividad, en las dos estaciones de primavera (n=17) y verano (n=17). Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución de datos.

Figura 37. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m³) en la fase de pre actividad, en primavera y verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan los niveles de UFC/m³ encontrados en el período de pre actividad, en las 17 clínicas muestreadas durante las estaciones de primavera y verano, para ninguno de los géneros analizados.

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las especies y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 44**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 45**).



Tabla 44. Valores de la mediana (UFC/m³) obtenidos para cada especie durante la fase de pre actividad en primavera y verano.

FASE DE PRE ACTIVIDAD		
ESPECIES	PRIMAVERA	VERANO
	Mediana (UFC/m ³)	
<i>Penicillium</i> spp.	6	3
Mucorales	1,5	1
<i>Aspergillus</i> spp.	2,5	1
<i>Cladosporium</i> spp.	3	3
<i>Alternaria</i> spp.	10,5	5
<i>Curvularia</i> spp.	2,5	3
<i>Drechslera</i> spp.	n.d	1
<i>Paecilomyces</i> spp.	n.d	3
<i>Trichoderma</i> spp.	1	n.d
<i>Absidia</i> spp.	n.d	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	n.d	n.d
Levaduras	1	n.d
<i>Scopulariopsis</i> spp.	3,5	3

n.d : < L_D por debajo del límite de detección.

Tabla 45. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de pre actividad, en primavera y verano.

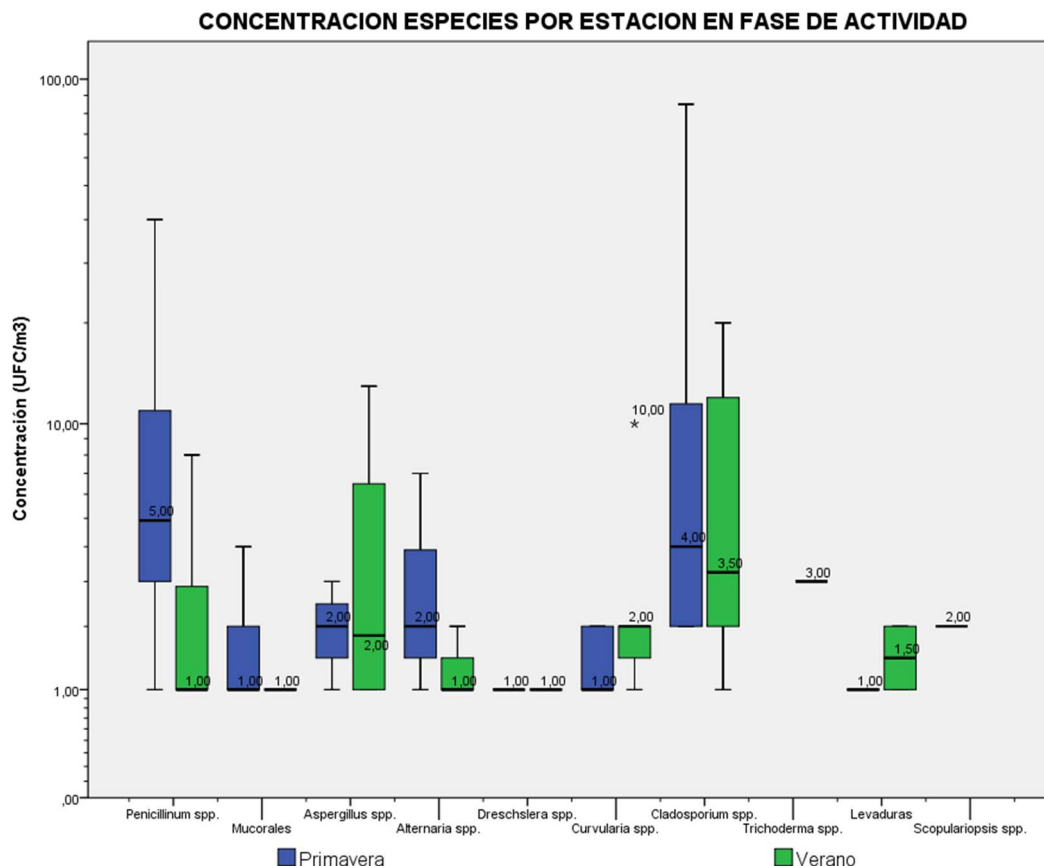
ESPECIES	Man-Withney U	P value
<i>Penicillium</i> spp.	34,50	0,4111
Mucorales	n/a	n/a
<i>Aspergillus</i> spp.	6,000	0,8720
<i>Cladosporium</i> spp.	43,00	0,9662
<i>Alternaria</i> spp.	n/a	n/a
<i>Curvularia</i> spp.	10	0,3947
<i>Drechslera</i> spp.	n/a	n/a
<i>Paecilomyces</i> spp.	n/a	n/a
<i>Trichoderma</i> spp.	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp.	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp.	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n/a	n/a

n/a: no aplicable

5.6.3. Análisis por especies: fase de actividad

El gráfico de cajas de la **Figura 38** compara las especies encontradas en la fase de actividad, en las dos estaciones de primavera (n=17) y verano (n=17). Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución de datos.

Figura 38. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m³) en la fase de actividad, en primavera y verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan los niveles de UFC/m³ encontrados en el período de actividad, en las 17 clínicas muestreadas durante las estaciones de primavera y verano, para ninguno de las especies analizadas.

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las especies y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 46**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 47**).



Tabla 46. Valores de la mediana (UFC/m³) obtenidos para cada especie durante la fase de actividad en primavera y verano.

FASE DE ACTIVIDAD		
ESPECIES	VERANO	PRIMAVERA
Mediana (UFC/m ³)		
<i>Penicillium</i> spp.	5	1
Mucorales	1	1
<i>Aspergillus</i> spp.	2	2
<i>Cladosporium</i> spp.	4	3,5
<i>Alternaria</i> spp.	2	1
<i>Curvularia</i> spp.	1	2
<i>Drechslera</i> spp.	1	1
<i>Paecilomyces</i> spp.	n.d	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	n.d	3
<i>Absidia</i> spp.	n.d	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	n.d	n.d
Levaduras	1	1.5
<i>Scopulariopsis</i> spp.	2	n.d

n.d : < L_D por debajo del límite de detección.

Tabla 47. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de actividad, en primavera y verano.

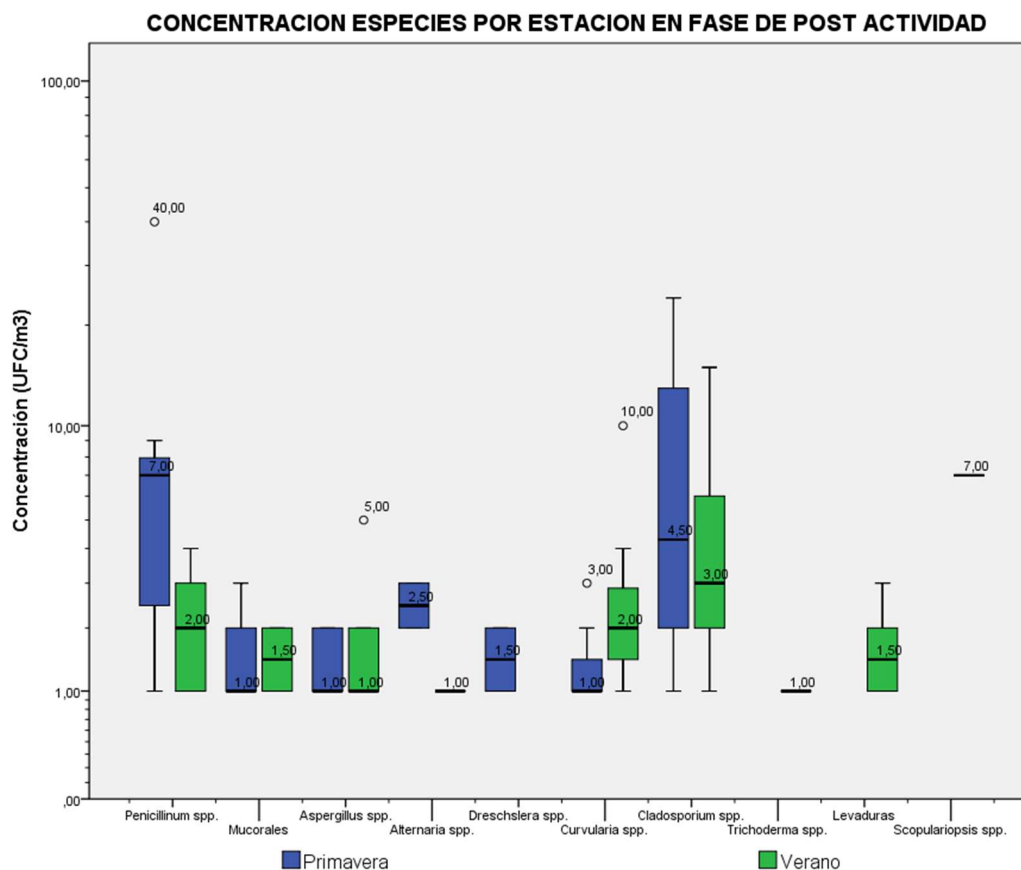
ESPECIES	Man-Whitney U	P value
<i>Penicillium</i> spp.	11,5	0,06
Mucorales	n/a	n/a
<i>Aspergillus</i> spp.	7,5	1,0
<i>Cladosporium</i> spp.	31,5	0,8
<i>Alternaria</i> spp.	2,5	0,5
<i>Curvularia</i> spp.	11,0	0,3
<i>Drechslera</i> spp.	n/a	n/a
<i>Paecilomyces</i> spp.	n/a	n/a
<i>Trichoderma</i> spp.	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp.	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp.	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n/a	n/a

n/a: no aplicable

5.6.4. Análisis por especies: fase de post actividad.

El gráfico de cajas de la **Figura 39** compara las especies encontradas en la fase de post actividad, en las dos estaciones de primavera (n=17) y verano (n=17). Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución de datos.

Figura 39. Distribución de concentraciones para cada una de las especies detectadas (UFC/m³) en la fase de post actividad, en primavera y verano.



No se han observado diferencias significativas cuando se contrastan los niveles de UFC/m³ encontrados en el período de actividad, en las 17 clínicas muestreadas durante las estaciones de primavera y verano, para ninguno de los géneros analizados.

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada una de las especies y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 48**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 49**).



Tabla 48. Valores de la mediana (UFC/m³) obtenidos para cada especie durante la fase de post actividad en primavera y verano.

FASE DE POST ACTIVIDAD		
ESPECIES	PRIMAVERA	VERANO
	Mediana (UFC/m ³)	
<i>Penicillium</i> spp.	7	2
Mucorales	1	1,5
<i>Aspergillus</i> spp.	1	1
<i>Cladosporium</i> spp.	4,5	3
<i>Alternaria</i> spp.	2,5	1
<i>Curvularia</i> spp.	1	2
<i>Drechslera</i> spp.	1,5	n.d
<i>Paecilomyces</i> spp.	n.d	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	n.d	1
<i>Absidia</i> spp.	n.d	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	n.d	n.d
Levaduras	n.d	1,5
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n.d	7

n.d : < L_D por debajo del límite de detección.

Tabla 49. Prueba estadística de contraste entre las especies detectadas en la fase de post actividad, en primavera y verano.

ESPECIES	Mann-Withney U	P value
<i>Penicillium</i> spp.	10,00	0,1277
Mucorales	9,000	0,8949
<i>Aspergillus</i> spp.	17,00	0,9233
<i>Cladosporium</i> spp.	26,50	0,5402
<i>Alternaria</i> spp.	n/a	n/a
<i>Curvularia</i> spp.	15,00	0,1197
<i>Drechslera</i> spp.	n/a	n/a
<i>Paecilomyces</i> spp.	n/a	n/a
<i>Trichoderma</i> spp.	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp.	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp.	n/a	n/a
Levaduras	n/a	n/a
<i>Scopulariopsis</i> spp.	n/a	n/a

n/a: no aplicable

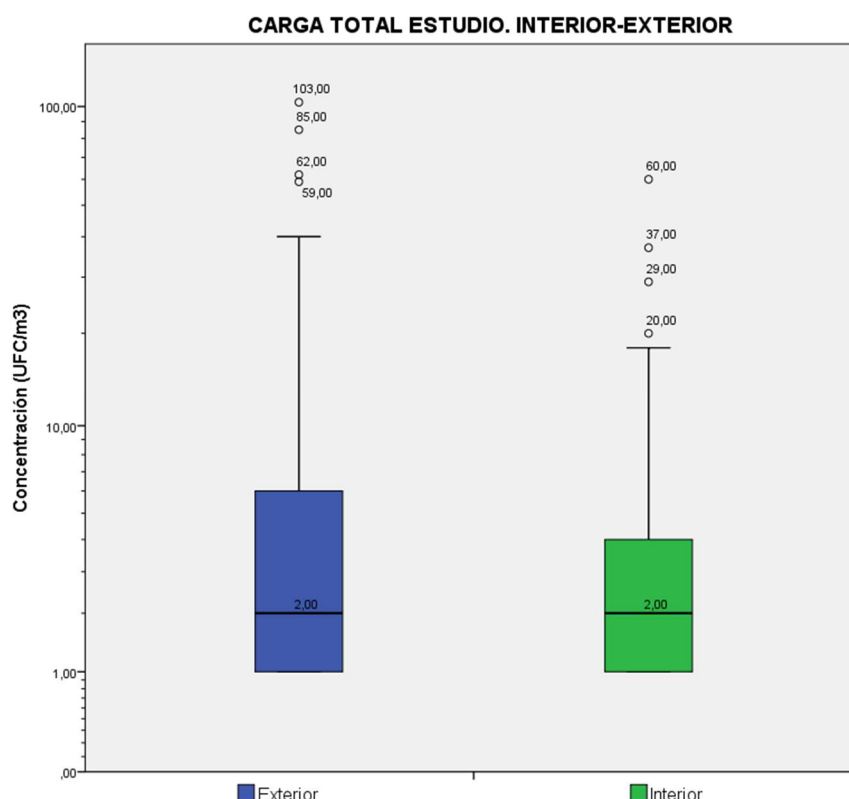
5.7. Análisis de la carga fúngica total obtenida en el estudio.

En esta sección se realiza un estudio de la carga fúngica (total y por especies) obtenida a lo largo de todo el estudio, eliminando el factor estacional, es decir, juntando las estaciones de primavera y verano. El objetivo es valorar las posibles diferencias que se originan con respecto a las pruebas si se han tenido en cuenta este factor.

5.7.1. Análisis general. Carga fúngica total. Comparación Interior - Exterior.

El gráfico de cajas de la **Figura 40** muestra la distribución de concentraciones obtenida para las cargas fúngicas interior y exterior de las clínicas muestreadas a lo largo de todo el estudio¹², eliminando el factor estacional (primavera y verano conjuntamente).

Figura 40. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas en Interior y Exterior de las 17 clínicas analizadas en las estaciones de primavera y verano. Se elimina el factor estacional.



¹² La carga fúngica interior ha sido determinada con los resultados de los tres muestreos realizados en interiores (pre actividad, actividad y post actividad) en cada una de las 17 clínicas y en las dos estaciones (n=102 → P [n=51] y V [n=51]); frente a la carga fúngica exterior encontrada en las estaciones de primavera y verano (n=34 → P [n=17] y V [n=17]).



Se ha observado que existen diferencias significativas ($p=0.0088$), entre la carga fúngica de exterior y la de interior, sumando las dos estaciones, siendo la de exterior superior ($854\text{UFC}/\text{m}^3$) ligeramente superior a la carga observada en el interior ($1107\text{UFC}/\text{m}^3$).

Los valores de las medianas (UFC/m^3) obtenidas para cada ambiente y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 50**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilconson para los contrastes de las variables (**Tabla 51**).

Tabla 50. Valores de la mediana (UFC/m^3) de la carga fúngica total encontrada en el ambiente exterior e interior de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.

	MEDIANA (UFC/m^3)
EXTERIOR (P+V)	2
INTERIOR (P+V)	2

P= primavera; V= verano.

Tabla 51. Valores de la prueba estadística correspondiente a la Figura 40.

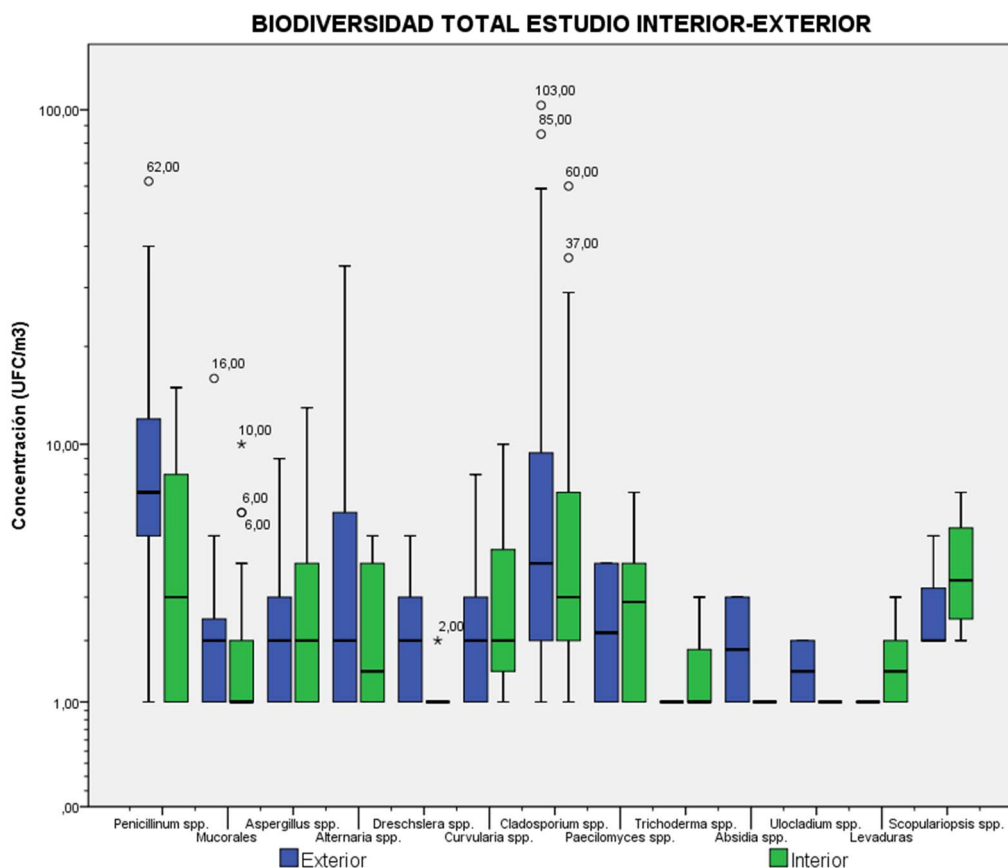
PRUEBA	U-Mann	W Wilconson	Sig. Asintótica (bilateral)
Total INTERIOR (P+V) vs EXTERIOR (P+V)	68,00	221,000	0,0088
Variable de agrupación: ambiente interior – exterior			

P= primavera; V= verano.

5.7.2. Análisis por especies. Comparación entre Interior - Exterior.

En la **Figura 41** se analizan, por especie identificada, los resultados que se obtienen de las cargas obtenidas en el interior en ambas estaciones y contrastándola con la carga exterior para las dos estaciones

Figura 41. Diagrama de distribución de concentraciones (UFC/m³) encontradas para cada una de las especies muestreadas en el Exterior total estudio vs. Interior total estudio.



Se ha observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas (UFC/m³) obtenidas en Exterior total estudio vs Interior total estudio para el orden Mucorales ($p= 0,0010$) y *Aspergillus* spp. ($p= 0,0242$) en las 17 clínicas muestreadas.

Los valores de las medianas (UFC/m³) obtenidas para cada especie y utilizadas en la estadística de contraste se representan numéricamente en el interior de las cajas de la figura anterior y en la **Tabla 52**.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las variables (**Tabla 53**).



Tabla 52. Valores de la mediana (UFC/m³) de cada una de las especies en el ambiente exterior e interior de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.

ESPECIES	TOTAL ESTUDIO INTERIOR	TOTAL ESTUDIO EXTERIOR
	Mediana (UFC/m ³)	
<i>Penicillium</i> spp.	3	7
Mucorales	1	2
<i>Alternaria</i> spp.	1,5	2
<i>Aspergillus</i> spp.	2	2
<i>Drechslera</i> spp.	1	2
<i>Curvularia</i> spp.	2	2
<i>Cladosporium</i> spp.	3	4
<i>Paelomyces</i> spp.	3	2,5
<i>Trichoderma</i> spp.	1	1
<i>Absidia</i> spp.	1	2
<i>Ulocladium</i> spp.	1	1,5
Levaduras	1,5	1
<i>Scopulariopsis</i> spp.	3,5	2

P= primavera; V= verano.

Tabla 53. Prueba estadística de contraste entre especies Exterior total estudio vs Total Interior estudio.

ESPECIES	Man-Withney U	P valor
<i>Penicillium</i> spp	88,50	0,0557
Mucorales	48,50	0,0010
<i>Aspergillus</i> spp	79,00	0,0242
<i>Cladosporium</i> spp	137,0	0,8094
<i>Alternaria</i> spp	142,0	0,9413
<i>Curvularia</i> spp	127,0	0,5536
<i>Drechslera</i> spp	111,0	0,1829
<i>Paecilomyces</i> spp	140,5	0,8712
<i>Trichoderma</i> spp	n/a	n/a
<i>Absidia</i> spp	n/a	n/a
<i>Ulocladium</i> spp	n/a	n/a
Levaduras	100,5	0,0623
<i>Scopulariopsis</i> spp	n/a	n/a

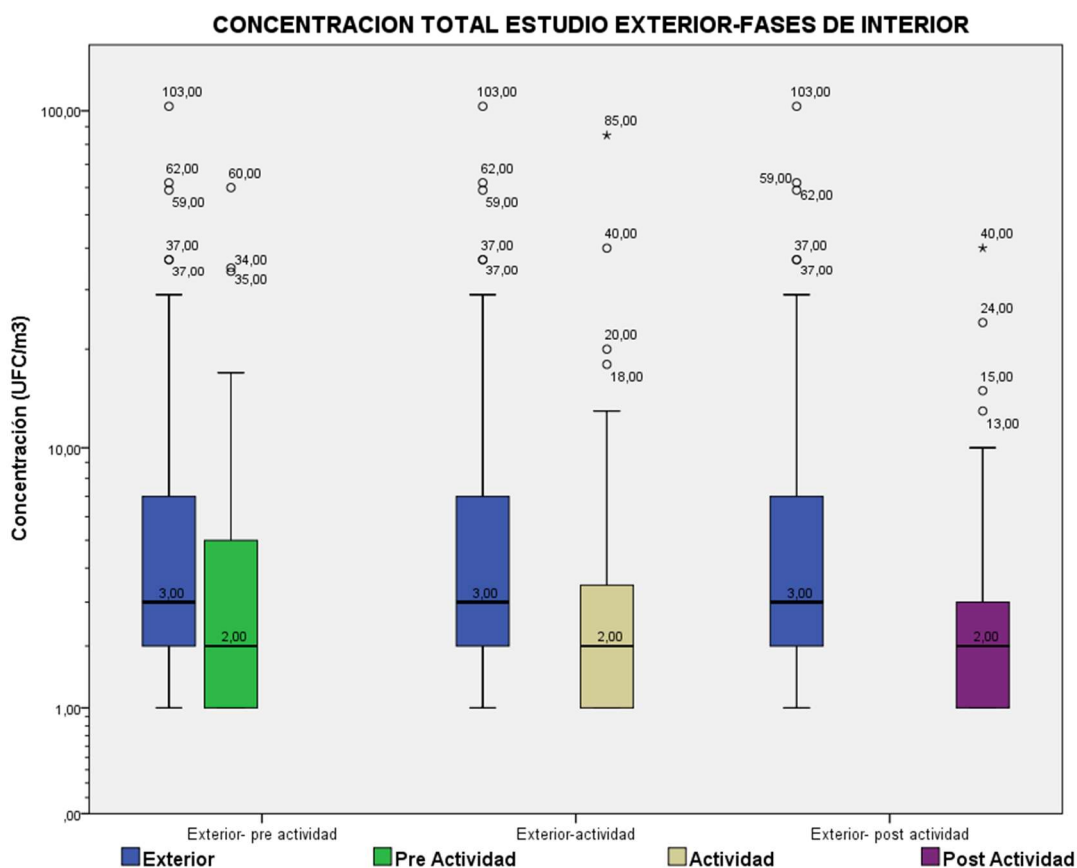
n/a: no aplicable P= primavera; V= verano.

5.7.3. Análisis entre fases de muestreo.

Se comparan cada una de las fases de muestreo interior con la fase de muestreo exterior eliminando el factor estacional.

En el gráfico de cajas de la la **Figura 42** se compara la carga fúngica encontrada en las fases de muestreo realizadas en el interior de las clínicas (pre actividad, actividad y post actividad) frente al exterior, eliminado el factor estacional.

Figura 42. Niveles de la carga fúngica (UFC/m³) encontrados en Interior Pre Actividad, Actividad y Post Actividad en el total del estudio vs. Exterior total estudio.



Se han observado diferencias significativas cuando se contrastan las cargas de la fase de pre actividad, actividad y post actividad con la fase de exterior ($p=0,0002$) siendo los valores de exterior superiores a los de interior para cada uno de los períodos muestreados.

Los valores de las medianas (UFC/m³) que se han utilizado en la estadística de contraste se observan en el interior de las cajas del gráfico anterior y se encuentran resumidos en la **Tabla 54**. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para el contraste de las variables entre las clínicas (**Tabla 55**).



Tabla 54. Valores de la mediana (UFC/m³), para cada una de las fases de muestreo en las 17 clínicas eliminando el factor estacional (Fig. 42).

	EXTERIOR T. ESTUDIO	INTERIOR PRE ACTIVIDAD T. ESTUDIO	INTERIOR ACTIVIDAD T. ESTUDIO	INTERIOR POST ACTIVIDAD T. ESTUDIO
MEDIA (UFC/m ³)	3	2	2	2

P= primavera; V= verano.

Tabla 55. Prueba estadística de contraste para las distintas fases de interior vs. Exterior eliminando el factor estacional.

PRUEBA	Test. Kruskal-Wallis	Sig. Asintótica (bilateral)
Interior Pre Actividad (P+V) Interior Actividad (P+V) Interior Post Actividad (P+V) vs Total Exterior (P+V)	19,70	0,0002

P= primavera; V= verano.

Se utilizó el Test de Comparación Múltiple de Dunn's para establecer cuál de las comparaciones es más significativa (**Tabla 58**).

Tabla 56. Prueba estadística de contraste (Test De Comparación Múltiple de Dunn's) comparando cada una de las fases de interior vs. Exterior eliminando el factor estacional.

Test de Comparación Múltiple Dunn's	Diferencia en la suma de rangos	Significativa? P < 0.05?	Resumen
Exterior (P+V) vs. Pre Actividad (P+V)	16,62	No	ns
Exterior (P+V) vs. Actividad (P+V)	24,53	Yes	p<0.01
Exterior (P+V) vs. Post Actividad (P+V)	27,32	Yes	p<0.001
Pre Actividad (P+V) vs. Actividad (P+V)	7,912	No	ns
Pre Actividad (P+V) vs. Post Actividad (P+V)	10,71	No	ns
Actividad (P+V) vs. Post Actividad (P+V)	2,794	No	ns

P= primavera; V= verano.

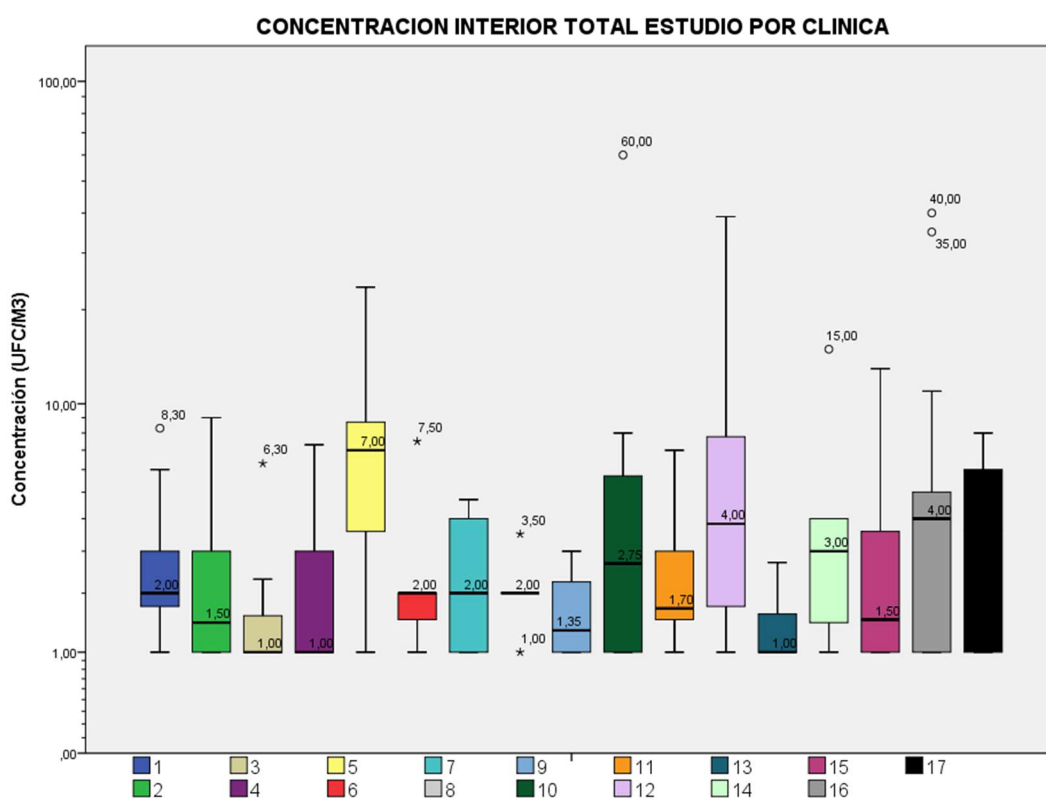
Se han observado diferencias significativas entre la fase de Exterior vs Actividad y la fase de Exterior vs Post Actividad, siendo mayor la significación entre la fase de exterior y post actividad.

5.7.4. Análisis de la carga fúngica interior. Comparación entre clínicas.

Se comparan las cargas fúngicas totales obtenidas en interior, eliminando el factor estacional, entre las diecisiete clínicas analizadas.

El gráfico de cajas de la **Figura 43** se comparas las cargas fúngica observadas para cada una de las clínicas, eliminado el factor estacional. Además, mediante el diagrama se puede observar los valores atípicos y la simetría de la distribución de datos.

Figura 43. Diagrama de la concentración (UFC/m³) encontrados en el interior de las 17 clínicas analizadas, eliminado el factor estacional..



Los valores de las medianas (UFC/m³) para cada una de las clínicas y que se han utilizado en la estadística de contraste se encuentran resumidos en la **Tabla 57**. Aunque la Prueba de Kruskal-Wallis, ver **Tabla 58**, ha salido significativa para este contraste ($p=0,0481$), se confirmó mediante el Test de Comparación Múltiple de Dunn's, la ausencia de significación entre alguna de las clínicas en concreto.



Tabla 57. Valores de la mediana y prueba estadística de contraste para cada una de las clínicas analizadas, eliminando el factor estacional.

CLINICA	MEDIANA	Test Dunn's P= < 0,05?
1	2	No
2	1,5	No
3	1	No
4	1	No
5	7	No
6	2	No
7	2	No
8	2	No
9	1,35	No
10	2,75	No
11	1,7	No
12	4	No
13	1	No
14	3	No
15	1,5	No
16	4	No
17	3,5	

Tabla 58. Prueba estadística de contraste entre clínicas comparando Interior Clínica vs.Clínica.Eliminado factor estacional.

PRUEBA	Test Kruskal-Wallis	Sig.Asintótica (bilateral)
Total Interior estudio por clínica (Clínica vs Clínica)	21,15	0,0481

P= primavera; V= verano

5.8. Análisis de otras variables consideradas en el estudio

Además de las variables evaluadas en secciones anteriores, en este apartado se estudiará la relación de otro grupo de variables que se han tenido en cuenta en este estudio con el objeto de averiguar su posible influencia en los resultados obtenidos en relación a la carga fúngica obtenida en cada una de las fases de muestreo de interior (pre actividad, actividad, post actividad), en el total de las clínicas analizadas.

Para el estudio de las variables relacionadas con la humedad relativa y temperatura, se utiliza el “Criterio Confort” y el “Criterio Valor Límite Máximo” descrito en la norma UNE 171330-2:2014 “Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior”. Los valores que definen este criterio se exponen en la **Tabla 59**.

Tabla 59. Valores máximos y mínimos y valores límite para humedad relativa y temperatura. Norma UNE 171330:2014.

PARÁMETRO	MÉTODO	CRITERIO DE VALORACIÓN	
		Criterio Confort: Se acepta hasta un 25% de superaciones)	Criterio Valor: límite máximo
Temperatura (T) y humedad relativa (H.R)	Equipos de medición directa	<p>Temperatura (°C) y H. R (%):</p> <p>Primavera-Verano:</p> <p>23-25°C</p> <p>30-70%</p> <p>Otoño-Invierno:</p> <p>21-23 °C</p> <p>30-70%</p>	Valores límites máximos solo para temperatura (todo el año) 17-27 °C

5.8.1. Variables (i y ii): “Relación de la temperatura y humedad relativa”

Se comienza el análisis con el estudio de los valores obtenidos para la humedad relativa y la temperatura, relacionando estadísticamente la carga fúngica que se ha obtenido en cada fase de muestreo en el interior de las clínicas con ambas variables en el momento de la toma de la muestra.

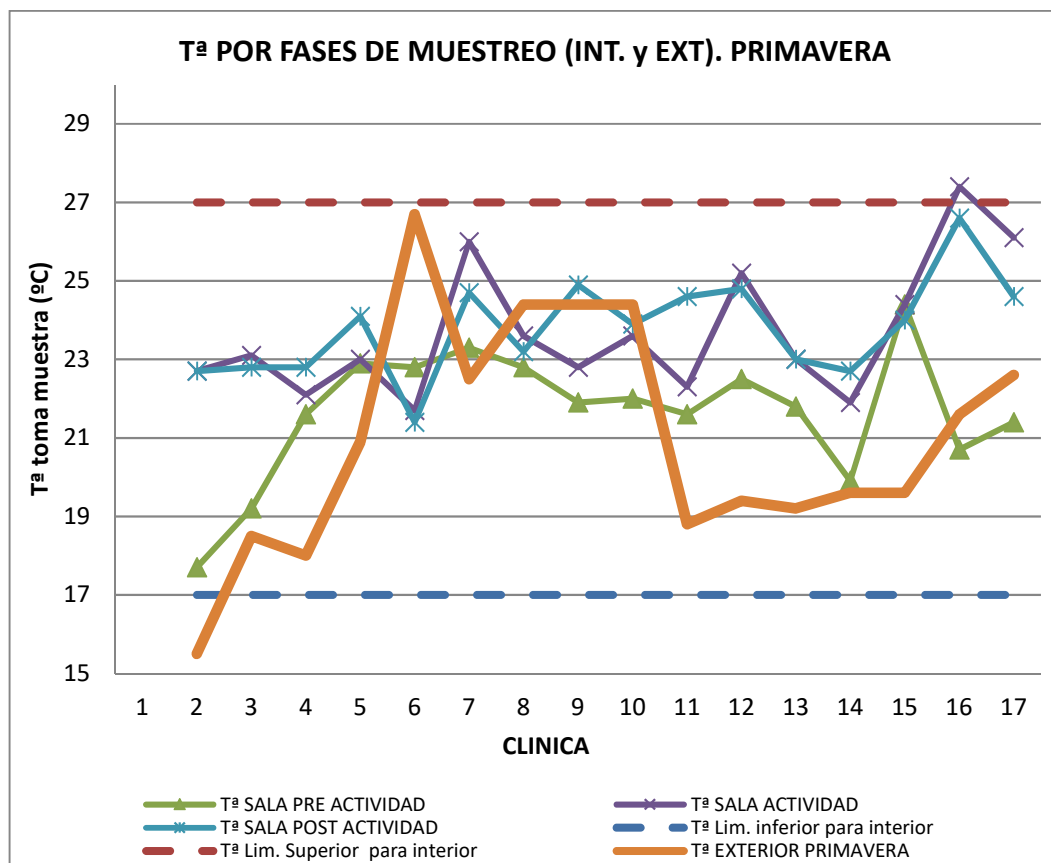
5.8.1.1. Análisis general Temperatura (T^a).

Las **Figuras 44 y 45** presentan la temperatura ambiental en el momento de toma de muestras para las fases de interior (pre actividad, actividad y post actividad) y exterior, en las diecisiete clínicas muestreadas, durante las estaciones de primavera (Fig. 44) y verano (Fig. 45).



Además, los gráficos también muestran, como referencia, los valores límite superior (27°C) e inferior (17°C) para la temperatura según la norma UNE 171330-2:2014, tal y como se ha descrito en la tabla 61.

Figura 44. Temperatura ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de primavera.



* No se dispone de medición de temperatura para la Clínica 1.

La **Figura 44** representa los valores para la temperatura obtenidos en la estación de primavera. Como se puede observar el mayor rango de variación de la temperatura se da en el exterior (línea de color naranja), como cabría esperar.

La Tª más baja en la fase de exterior se obtuvo en la clínica N°2 (15,5°C) y la Tª más elevada se obtuvo en la clínica N° 6 (26,7°C), lo que refleja la variabilidad de temperaturas durante la estación de primavera.

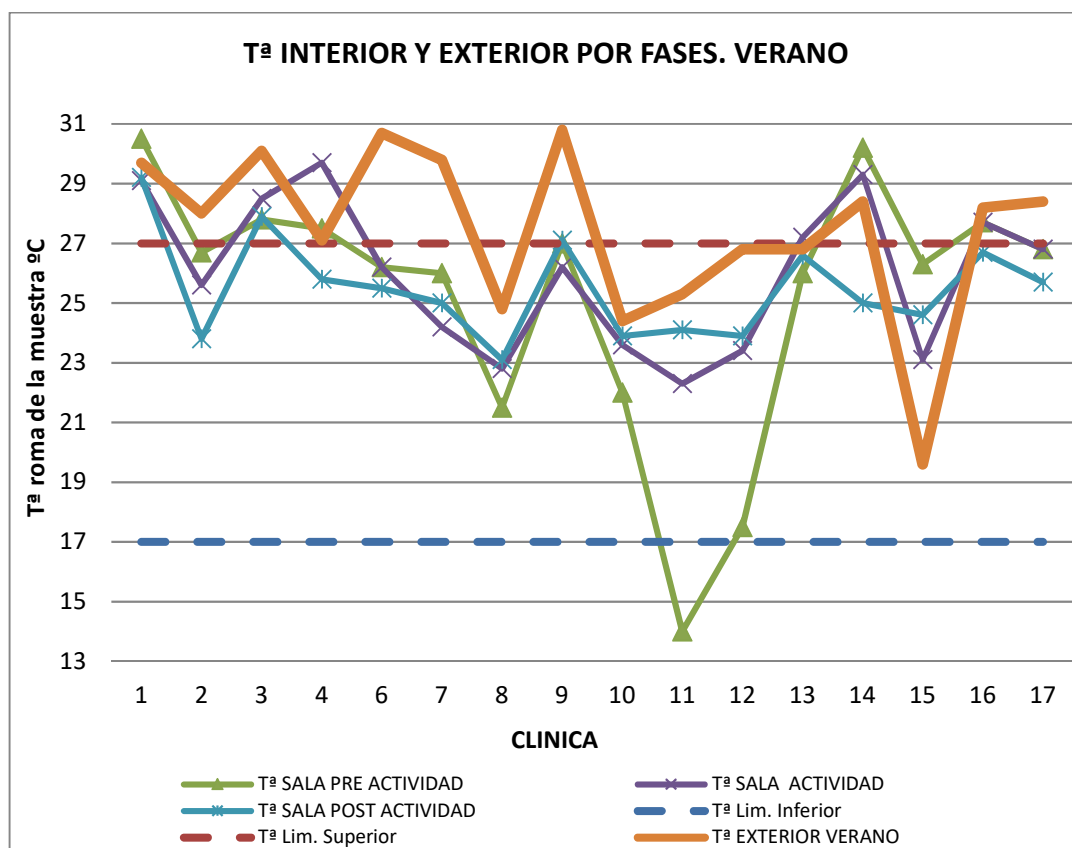
En cuanto a la temperatura interior, los valores más bajos se obtuvieron también en la fase de pre actividad de la clínica N°2 (17,7°C), lo que concuerda con el mínimo medido en la fase exterior. Esto se debe a que las muestras tomadas en la fase de pre actividad están muy próximas al momento de apertura de las clínicas por lo que es esperable que algunas clínicas no hayan tenido tiempo

suficiente para aclimatar las estancias. De forma general, el rango de variabilidad de temperatura en el resto de fases de interior es menor (generalmente oscilando entre 21 y 25°C), dado que la estancia se encuentra previsiblemente mejor climatizada.

Los valores más elevados se registraron en la clínica N° 16 (con 27,4°C en el periodo de actividad y 26,6°C en la fase de post actividad) y, en menor medida, en la clínica N° 17 (aunque con ambos valores dentro de los límites).

La **Figura 45** muestra los valores obtenidos para la temperatura durante la estación de verano.

Figura 45. Temperatura ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de verano.



En general, en la estación de verano se obtuvieron unos valores de temperatura exterior muy elevados (línea naranja), aun habiendo sido tomadas a primeras horas de la mañana, antes de comenzar la actividad. Estas valores reflejan las elevadas temperaturas estivales de la ciudad de Madrid. El valor de Tª exterior más baja se obtuvo en la clínica N° 15 (19,6°C) tomado a las 09:30h de la



mañana y el valor de la Tª exterior más elevado se obtuvo en la clínica N° 9 (30,8°C) tomado aproximadamente a las 11:00 de la mañana.

En cuanto a la Tª interior de las clínicas en la estación de verano, los valores más elevados corresponden:

- Período de pre actividad: clínicas N° 1 (30,5°C), N° 3 (27,8°C) N° 4 (27,5°C), N° 14 (30,2°C) y N° 16 (27,7°C), las cuales sobrepasan el límite superior de temperatura recomendado por normativa.
- Período de actividad, clínicas N° 1 (29,1°C), N°3 (28,5°C), N°4 (29,7°C), N°13 (27,2°C), N°14(29,3) y N° 16 (27,7°C), todas ellas también superan la temperatura límite superior indicada en la normativa.
- Período de post actividad, clínicas N°1 (29,2°C) y N°3 (27,9°C).

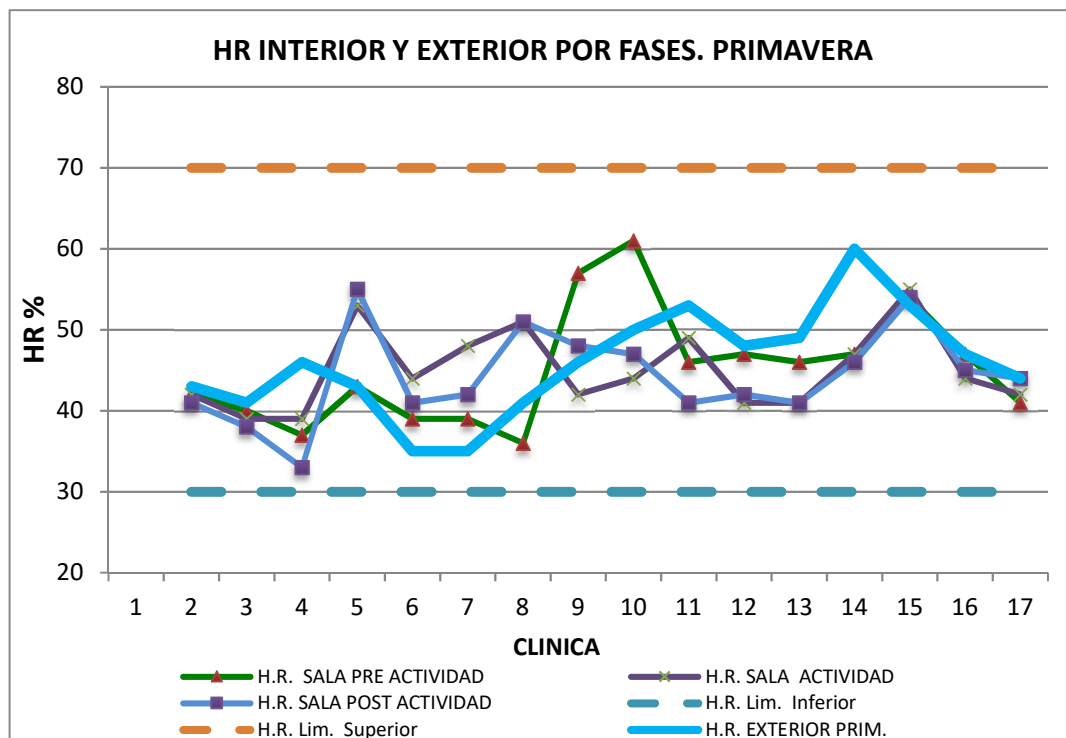
De forma general, en el periodo estival, la variabilidad de temperatura en las fases de interior oscila en un rango superior de temperaturas, entre 23 y 27°C (frente a los 21 y 25°C de primavera). En ocasiones, como se ha comentado en los puntos anteriores, este rango se llega a superar alcanzando temperaturas más elevadas que el límite superior recomendado.

5.8.1.2. Análisis general. Humedad relativa (HR)

Las **Figuras 46 y 47** presentan la humedad relativa (HR) ambiental en el momento de toma de muestras para las fases de interior (pre actividad, actividad y post actividad) y exterior, en las diecisiete clínicas muestreadas, durante las estaciones de primavera (Fig. 46) y verano (Fig. 47).

Además, los gráficos también muestran, como referencia, los valores considerados como “Criterio Confort” para la humedad relativa, según la norma UNE 171330-2:2014: criterio de confort superior (70%) y criterio de confort inferior (30%), tal y como se ha descrito en la tabla 59.

Figura 46. Humedad relativa ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de primavera.



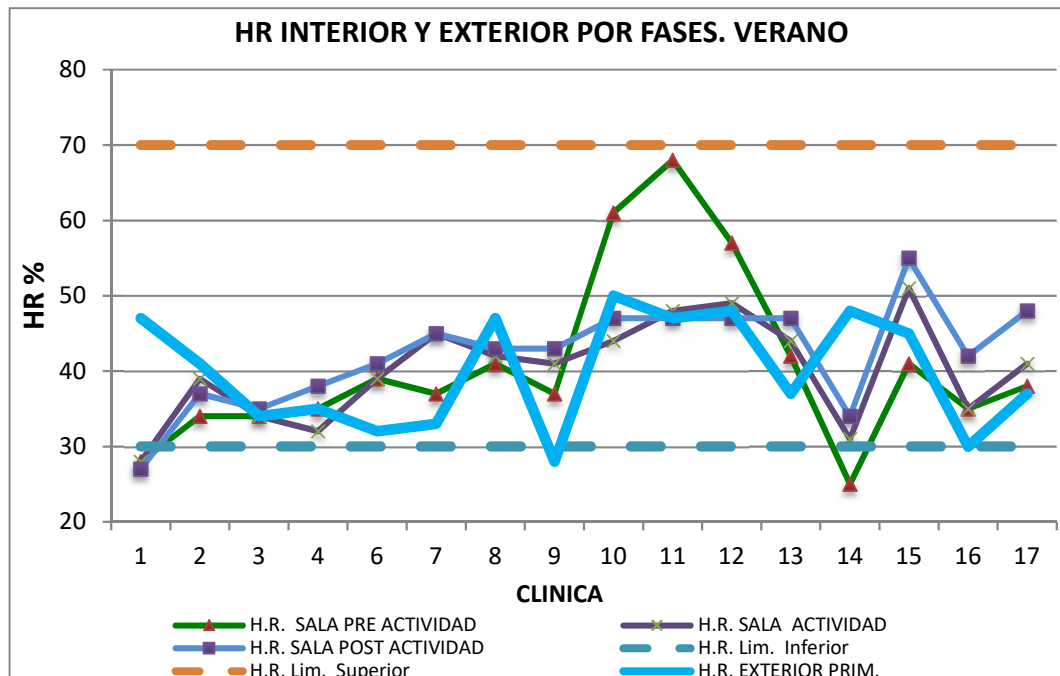
La **Figura 46** muestra los valores para la humedad relativa obtenidos durante la estación de primavera que oscilaron entre un 41% y un 60%, por lo que todas las clínicas se sitúan dentro de los criterios de confort establecidos por normativa en las tres fases de muestreo interior (pre actividad, actividad y post actividad).

El valor mínimo se observa en la clínica N°4 con un 33% humedad, en la fase de post actividad y el valor máximo se observa en la clínica N° 10 con un 61% en la fase de pre actividad.

La **Figura 47** muestra los valores para la humedad relativa obtenidos durante la estación de verano.



Figura 47. Humedad relativa ambiental durante cada fase de muestreo en las diecisiete clínicas (exterior, pre actividad, actividad y post actividad). Estación de verano.



Como se puede observar en la **Figura 47**, la humedad relativa en el exterior de las clínicas no pasó del 50% siendo, de forma general, menor en verano que en primavera. El valor mínimo registrado se dio en la clínica N° 9, con un 28%.

En cuanto a la HR en el interior de las clínicas, prácticamente todas se situaron dentro de los niveles recomendados según normativa, excepto en la clínica N°1 cuyos valores de HR durante los períodos de pre actividad, actividad y post actividad se situaron por debajo del criterio de confort inferior del 30% (entre el 27-28%) y en la clínica N° 14, en la que la humedad relativa en el período de pre actividad se situó en un 25%.

El pico más alto para la humedad relativa en el periodo estival fue del 68% en la clínica N°11, en la fase de pre actividad. Le siguió la clínica N° 10 con un 61% humedad.

5.8.1.3. Análisis estadístico general.

En este apartado se analiza si hay relación entre la temperatura y la humedad relativa obtenidas en el momento de la toma de la muestra, y los resultados para el total de hongos filamentosos hallados en el aire interior de las clínicas de podología. Esta prueba se lleva a cabo para cada una de las fases que se han



muestreado en el interior de las clínicas (pre actividad, actividad y post actividad), en la estación de primavera y verano.

Se utiliza la prueba estadística U de Mann-Whitney. Los resultados se detallan en la **Tabla 60**.

Tabla 60. Prueba estadística de contraste para la Tª y H.R en relación al total de hongos filamentosos encontrados en cada una de las fases de interior analizadas, en las dos estaciones muestreadas.

ESTACION	FASES MUESTREADAS	U de Mann-Whitney		Sig.asintótica (bilateral)		Sig. exacta [2*(sig.unilateral)]	
		H.R.	Tª	H.R.	Tª	H.R.	Tª
PRIMAVERA	PRE ACTIVIDAD	25,00	13,50	0,46	0,94	0,50	0,93
	ACTIVIDAD	22,00	26,50	0,38	0,59	0,43	0,61
	POST ACTIVIDAD	19,00	29,00	0,23	0,91	0,26	0,96
VERANO	PRE ACTIVIDAD	3,50	13,00	0,03	0,18	0,25	0,21
	ACTIVIDAD	8,50	15,50	0,14	0,11	0,15	0,12
	POST ACTIVIDAD	22,50	28,50	0,41	0,75	0,43	0,76

No se observa significación estadística para la correlación temperatura - concentración de hongos filamentosos, en ninguna de las fases de muestreo realizadas en el interior de las clínicas, ni en ninguna de las estaciones de muestreo.

Para el caso de la humedad relativa, se obtiene una significación estadística ($p=0,03$) para la relación entre el período de pre actividad y el total de hongos filamentosos en la estación de verano.

5.8.1.4. Análisis estadístico por especies

En este apartado se analiza si hay relación entre la temperatura y la humedad relativa obtenidas en el momento de la toma de la muestra, y los resultados para cada una de las especies halladas en el aire interior de las clínicas de podología. Esta prueba se lleva a cabo para cada una de las fases que se han muestreado en el interior de las clínicas (pre actividad, actividad y post actividad), en la estación de primavera y verano.

Se utiliza la prueba estadística U de Mann-Whitney. Los resultados se detallan en la **Tabla 61**. Esta prueba se realiza con las especies principales y de mayor prevalencia, que son de las que se disponen datos suficientes como para realizar el contraste.



Tabla 61. Prueba estadística de contraste para la Tª y H.R en relación a las especies principales encontradas en cada una de las fases de interior analizadas, en las dos estaciones muestreadas.

ESPECIES	ESTACION	FASES MUESTREADAS	U de Mann-Whitney		Sig.asintótica (bilateral)		Sig. exacta [2*(sig.unilateral)]	
			H.R.	Tª	H.R.	Tª	H.R.	Tª
<i>Penicillium</i> spp.	PRIMAVERA	PRE ACTIVIDAD	7,50	0,50	0,69	0,17	0,71	0,22
		ACTIVIDAD	2,50	0,30	0,21	0,43	0,23	0,57
		POST ACTIVIDAD	1,50	3,00	0,55	0,50	0,67	0,70
	VERANO	PRE ACTIVIDAD	4,00	4,00	0,19	0,19	0,26	0,26
		ACTIVIDAD	1,50	4,00	0,48	0,79	0,67	1,00
		POST ACTIVIDAD	2,00	2,00	0,54	0,54	0,80	0,80
Mucorales	PRIMAVERA	PRE ACTIVIDAD	5,00	n/a	0,41	n/a	0,57	n/a
		ACTIVIDAD	1,50	5,00	0,40	1,00	0,57	1,00
		POST ACTIVIDAD	7,00	4,00	0,74	0,44	0,89	0,64
	VERANO	PRE ACTIVIDAD	5,00	6,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		ACTIVIDAD	n/a	1,50	n/a	1,00	n/a	1,00
		POST ACTIVIDAD	0,00	0,00	0,32	0,32	1,00	1,00
<i>Aspergillus</i> spp.	PRIMAVERA	PRE ACTIVIDAD	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
		ACTIVIDAD	2,00	0,00	1,00	0,16	1,00	0,50
		POST ACTIVIDAD	2,00	1,50	0,41	0,62	0,80	0,80
	VERANO	PRE ACTIVIDAD	0,00	0,00	0,09	0,09	0,28	0,29
		ACTIVIDAD	0,00	0,00	0,12	0,15	0,33	0,50
		POST ACTIVIDAD	1,00	2,00	0,23	0,27	0,68	0,53
<i>Cladosporium</i> spp.	PRIMAVERA	PRE ACTIVIDAD	10,50	0,00	0,50	0,11	0,53	0,18
		ACTIVIDAD	5,00	3,00	0,71	0,27	0,86	0,40
		POST ACTIVIDAD	4,00	2,00	1,00	0,355	1,00	0,53
	VERANO	PRE ACTIVIDAD	4,00	4,00	0,68	0,68	0,86	0,86
		ACTIVIDAD	0,00	6,00	0,03	0,31	0,56	0,41
		POST ACTIVIDAD	11,00	10,50	0,83	1,00	0,91	1,00

n/a: no aplicable. Pruebas estadísticas no disponibles por datos insuficientes en las especies.

No se observa significación estadística para la correlación entre la temperatura y la concentración de las distintas especies encontradas en este estudio, en ninguna de las fases de muestreo realizadas en el interior de las clínicas, ni en ninguna de las estaciones de muestreo.

Para el caso de la humedad relativa, se obtiene una significación estadística ($p=0,032$) para la relación entre la fase de actividad y la concentración de *Cladosporium* spp. en la estación de verano. Mirar con Luis este resultado cuando lo digo en el apartado de las conclusiones.

5.8.2. Variable (iii) “Utilización de los sistemas de climatización”.

El análisis de la “relación entre la utilización de los sistemas de aire acondicionado y la influencia de estos sistemas en la concentración total de hongos dermatofitos” no se tratará a nivel estadístico en este estudio ya que la utilización de los mismos varío en función de las necesidades de cada profesional y de cada clínica, durante la jornada laboral.

Por lo tanto, no se pudo mantener un criterio único de encendido o apagado de los equipos de aire durante los muestreos realizados a lo largo del día.

5.8.3. Variable (iv) “Dimensiones de la sala”.

El estudio de esta variable muestra si hay una posible relación entre las dimensiones de las salas muestreada y la concentración de hongos obtenida en el estudio. El análisis se realizará por fases de muestreo y en cada una de las dos estaciones.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las variables en cada una de las estaciones (**Tabla 62 y Tabla 63**). En las tablas también se muestran el número de clínicas que pertenecieron a cada una de las dos categorías en las que agruparon los datos de superficie de cada clínica.

La variable “dimensiones de sala” se clasificó en la estadística de contraste en base a dos categorías:

- Salas con superficie mayor a 10m² (<10).
- Salas con superficie menor a 10 m² (>10).

Tabla 62. Prueba estadística de contraste para la relación entre las dimensiones de la sala y la concentración de hongos obtenida. Estación de primavera.

CLASIFICACIÓN DE SALAS EN FUNCIÓN DE SUS DIMENSIONES		ESTADISTICO DE CONTRASTE PARA LAS FASES MUESTREO.			
		PRIMAVERA			
		Fases de muestreo	U-Mann- Withney	W-Wilcoxon	Sig. Asintótica (bilateral)
Dimensiones (>10)	10	Pre actividad	30,00	85,00	0,62
Dimensiones (<10)	7	Actividad	23,50	51,50	0,26
Total	17	Post actividad	31,50	86,50	0,73

No se observa significación estadística para la variable “dimensiones de la sala” y la concentración fúngica obtenida en cada fase de muestreo (pre actividad p=0,62; actividad p=0,26; post actividad p= 0,73).



Tabla 63. Prueba estadística de contraste para la relación entre las dimensiones de la sala y la concentración de hongos obtenida. Estación de verano.

CLASIFICACIÓN DE SALAS EN FUNCIÓN DE SUS DIMENSIONES		ESTADISTICO DE CONTRASTE PARA LAS FASES MUESTREO.			
		VERANO			
		Fases de muestreo	U-Mann- Withney	W-Wilcoxon	Sig. Asintótica (bilateral)
Dimensiones (>10)	10	Pre actividad	32,50	60,50	0,81
Dimensiones (<10)	7	Actividad	34,00	89,00	0,92
Total	17	Post actividad	30,50	85,50	0,66

No se observa significación estadística para la variable “dimensiones de la sala” y la concentración fúngica obtenida en cada fase de muestreo (pre actividad $p=0,81$; actividad $p=0,92$; post actividad $p=0,66$).

5.8.4. Variable (v) “Presencia de ventanas en la sala”.

Con esta variable se analiza si el hecho de que la sala tuviera o no ventanas (ventilación natural) ha influido en los resultados de concentración de hongos en el conjunto del estudio.

Se realiza en cada una de las fases de muestreo y en cada estación, para ver la influencia de la variable a lo largo del día y también a nivel estacional.

Se utilizó la prueba de Mann Withney-Wilcoxon para los contrastes de las variables en cada una de las estaciones (**Tabla 64 y Tabla 65**). En las tablas también se muestran el número de clínicas que disponían de ventanas en las salas de trabajo y las que no disponían de ventanas.

Tabla 64. Prueba estadística de contraste para la relación entre la presencia de ventanas en las salas y la concentración de hongos obtenida. Estación de primavera.

NUMERO DE CLÍNICAS CON PRESENCIA DE VENTANAS		ESTADISTICO DE CONTRASTE PARA LAS FASES MUESTREO.			
		PRIMAVERA			
		Fases de muestreo	U-Mann- Withney	W-Wilcoxon	Sig. Asintótica (bilateral)
Ventanas NO	8	Pre actividad	35,00	80,00	0,92
Ventanas SI	9	Actividad	28,500	64,00	0,47
Total	17	Post actividad	19,00	55,00	0,10

Según los resultados, no se observan diferencias significativas para la variable “presencia de ventanas en la sala” y concentración de hongos, en las diferentes fases de muestreo (pre actividad $p=0,92$; actividad $p=0,47$; post actividad $p=0,10$). Por lo tanto, no hay relación entre ambas variables por lo que si la sala



tenía, o no, ventilación natural no parece un factor influyente en las concentraciones de hongos filamentosos en las clínicas analizadas durante la estación de primavera.

Tabla 65. Prueba estadística de contraste para la relación entre la presencia de ventanas en las salas y la concentración de hongos obtenida. Estación de verano.

NUMERO DE CLÍNICAS CON PRESENCIA DE VENTANAS		ESTADISTICO DE CONTRASTE PARA LAS FASES MUESTREO.			
		PRIMAVERA			
		Fases de muestreo	U-Mann- Withney	W-Wilcoxon	Sig. Asintótica (bilateral)
Ventanas NO	8	Pre actividad	35,00	80,00	0,96
Ventanas SI	9	Actividad	30,00	75,00	0,56
Total	17	Post actividad	35,00	71,00	0,92

Según los resultados, no se observan diferencias significativas para la variable “presencia de ventanas en la sala” y concentración de hongos, en las diferentes fases de muestreo (pre actividad $p=0,96$; actividad $p=0,56$; post actividad $p=0,92$). Por lo tanto, no hay relación entre ambas variables por lo que si la sala tenía, o no, ventilación natural no parece un factor influyente en las concentraciones de hongos filamentosos en las clínicas analizadas durante la estación de verano.

DISCUSIÓN



6. DISCUSION

6.1. PARTE I: Discusión análisis hongos dermatofitos

6.1.1. Valoración de la generación de bioaerosoles contaminados por dermatofitos

De acuerdo con los resultados obtenidos, únicamente se obtienen dermatofitos viables en las clínicas de podología analizadas durante el período de actividad, no habiéndose encontrado dermatofitos ni en el blanco exterior tomado en la calle, ni en las muestras analizadas antes de que el profesional comenzase la consulta (pre-actividad), ni al finalizar la misma (post-actividad).

A la luz de estos resultados se puede decir que la exposición al hongo dermatofito se produce, con mayor probabilidad, durante las operaciones de fresado o reducción ungueal de uñas contaminadas por hongos, tal y como habían sugerido otros autores en sus estudios (6,92,94,134,161).

El *Trichophyton rubrum* ha sido el hongo dermatofito más aislado, seguido del *Trichophyton mentagrophytes*. Este hecho coincide con numerosas publicaciones que mencionan al *Trichophyton rubrum* como el dermatofito que se aísla con más frecuencia en las onicomycosis y Tinea pedis (162–164).

El *Trichophyton spp.* es también el hongo más frecuentemente aislado en las uñas infectadas y ha sido relacionado como causante de reacciones alérgicas en personas susceptibles (121,136). En varias publicaciones se ha determinado la presencia de anticuerpos para este microorganismo a través de pruebas serológicas realizadas a los podólogos participantes en los estudios (126,134,138). También es el género que se ha aislado en mayor proporción en los estudios en los que se ha analizado el polvo contenido en las bolsas conectadas a los sistemas de aspiración de los podólogos, el cual procede del fresado de las uñas y de la piel (92,142).

El hecho de que en este estudio se han obtenido dermatofitos viables en las muestras de aire, es una evidencia de que el hongo se encuentra en suspensión en el aire interior y puede ser inhalado por el profesional. Según las notas técnicas de organismos competentes como el Instituto de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSHT), la dosis infectiva mínima (DIM) para el *Trichophyton rubrum* se desconoce en la actualidad. También especifica que el principal mecanismo de propagación y transmisión sería el contacto directo o indirecto, pero añade que se pueden dar casos de sensibilización o alergia por inhalación de las esporas del hongo, en operaciones que impliquen la generación de bioaerosoles a partir de material o especímenes colonizados por el hongo. Las principales



vías de entrada al organismo serían, por lo tanto, la dérmica y la respiratoria (165).

Tanto el INSHT en su ficha técnica acerca de la descripción del *Trichophyton rubrum* como el Real Decreto 644/1997 del 12 de Mayo sobre la protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, consideran al *Trichophyton rubrum* como un alérgeno Tipo A, capaz de desarrollar posibles efectos alérgicos e incluido dentro del Grupo 2. Esta clasificación se ha realizado considerando sus posibles efectos sobre trabajadores sanos. No se han tenido en cuenta los efectos particulares que puedan tener en trabajadores cuya sensibilidad se vea afectada por causas tales como patología previa, medicación, trastornos inmunitarios, embarazo o lactancia (56,165).

Por lo tanto, las medidas de seguridad y EPIs (Equipos de Protección Individual) que se establecen para el caso de generación de bioaerosoles cargados con *Trichophyton rubrum* (165).

- Protección de las manos: guantes impermeables para manipular especímenes, pacientes, animales o materiales que pueden estar contaminados.
- Protección respiratoria: mascarillas autofiltrantes, al menos FFP2, o máscaras con filtros P2 en tareas que puedan generar polvo o bioaerosoles.



Figura 48. Tipos comunes de mascarillas FFP2.

- Protección ocular: gafas de protección en tareas que impliquen la generación de polvo, bioaerosoles o salpicaduras.



6.1.2. Cuantificación e identificación de dermatofitos en el aire interior de las clínicas

Se obtuvieron un total de 8 aislamientos positivos (23,5%) de las 34 eventos de muestreo durante el período de la actividad. Seis de ellos correspondieron a la especie *Trichophyton rubrum* (17,6%) y dos a *Trichophyton mentagrophytes* (5,9%) en una concentración que varió de 5 a 243 UFC/m³. Estos ocho aislamientos corresponden a siete clínicas distintas (41,2 %) de las diecisiete analizadas, ya que dos de los positivos se repitieron en la misma clínica.

Como se ha comentado anteriormente, son muy escasas las referencias relacionadas con la potencial exposición del podólogo a través de la toma de muestras de aire obtenidas de la zona de respiración del profesional. Algunos autores habían comentado en sus trabajos lo inusual de la ausencia de hongos dermatofitos en los estudios publicados, ya que muchos podólogos están sensibilizados a *Trichophyton rubrum*. Existe consenso acerca de que la inhalación es la ruta más probable para que ocurra la sensibilización, por lo que se supone que las esporas, supuestamente provenientes de uñas o piel infectadas, deben estar presentes en el aire o en la nariz del podólogo (138,166).

Una de las primeras referencias para la determinación de hongos dermatofitos en el aire interior de clínicas podológicas es la de Purkiss (91). Los resultados fueron negativos, argumentando en el estudio que quizás tanto la metodología, como el medio de cultivo y el tiempo de incubación no fueron los adecuados. Posteriormente, Old (1998), llevó a cabo un estudio acerca de la contaminación ambiental pero solo en cuanto a la carga bacteriana, concluyendo que ésta incrementaba a medida que aumentaba la actividad.

Estudios más actuales, como el de Coggins et al 2012 (6), analizaron la concentración de bacterias, hongos, levaduras y mohos utilizando un impactador en cascada de seis etapas (TE-10-800; Tisch Environmental, Inc., USA), colocado entre el profesional y el paciente. Además, colocaron un muestreador personal, en la solapa del profesional, para medir el polvo total inhalable y endotoxinas contenidas en la zona de respiración del profesional. No obstante, a diferencia del presente estudio que ha utilizado un muestreador de aire para la captación de hongos dermatofitos en el aire de las clínicas, Coggins tomó las muestras de hongos dermatofitos utilizando la técnica de placa de sedimentación sobre un medio específico (Agar Dermasol, incubándose a 22°C durante 2-4 semanas) y los resultados fueron también negativos.

El estudio de Humphreys et al. llevado a cabo en 2014 es el más similar a la presente investigación en cuanto metodología. Procedieron a la determinación de los niveles de contaminación microbiana del aire ambiental en una clínica de



podología Universitaria, utilizando muestreadores de impacto (MicroBio 2, Fred Parret Ltd, UK) mediante la toma de 400 litros de aire a un caudal de 100 l/min. Se tomaron muestras de aire antes, durante y después de las consultas. Las muestras para el aislamiento de hongos dermatofitos se tomaron sobre Agar Dermasel (Oxoid LTD, UK) y se incubaron a 30°C durante 6 semanas (150).

Los hongos recuperados de las placas Dermasel indicaron una concentración media de contaminación del aire de 0,9 UFC/m³ (n = 36, DS ± 0,3). Un total de seis aislamientos Dermasel fueron sometidos a análisis adicionales (PCR – reacción en cadena de la polimerasa) y sólo uno de ellos fue confirmado como *Trichophyton rubrum*.

Humphreys y sus colaboradores argumentaban que el riesgo más probable de infección por dermatofitos podría deberse a infecciones cruzadas por la utilización de instrumentos y fómites contaminados, aunque reconocían que la presencia de un número muy reducido de dermatofitos aerotransportados sugería que el riesgo de transmisión aérea de infecciones fúngicas era bajo, pero existente.

Los resultados de hongos dermatofitos del presente estudio son significativamente superiores en concentración (de 5 a 243 UFC/m³), lo que hace pensar que el riesgo potencial de transmisión aérea de infecciones por dermatofitos podría ser superior a lo inicialmente considerado por este autor.

Los contrastes entre los resultados de ambos estudios podrían deberse a diversos factores y aspectos metodológicos, en concreto:

- i. El estudio de Humphreys no especifica si los pacientes tratados mostraban alguna de sus uñas infectadas por hongos, en contraposición al presente estudio donde la “sospecha de onicomycosis” fue la variable que más influyó en los resultados. De hecho, el 100% de las muestras positivas para hongos dermatofitos (8 muestras) proceden de pacientes con sospecha de onicomycosis, lo que refleja la importancia de esta variable, que se comenta en mayor detalle en el apartado 6.1.3.
- ii. Humphreys llevó a cabo toda su investigación en la misma sala de quiropodología, que se encontraba dotada de sistemas de aspiración de polvo de uña. Por el contrario, el presente estudio se realizó en diecisiete (17) clínicas distintas, de las cuales alrededor de un tercio (29%) no disponían de sistemas de extracción. Se da la circunstancia que la mayoría de positivos se dan en estas clínicas (5 de 8, o un 62,5% de los casos), siendo esta variable la otra que ha presentado significación estadística en el estudio. En el apartado 6.1.4 se comenta esta variable en mayor detalle.



- iii. La diferencia en el volumen de aire muestreado podría haber jugado también un papel. Humphreys muestreó un volumen de 400 litros en cuatro minutos (100 l/min), mientras que en esta investigación se ha muestreado un volumen de 1000 litros en siete minutos (a 140 l/min durante los primeros 500 l y a 180 l/min para los otros 500 l restantes). Algunas referencias (77) orientan a muestrear grandes volúmenes de aire en el caso de esperar concentraciones bajas de los contaminantes.

Se tiene constancia de que en algunos estudios con elevados volúmenes de muestreo se han llegado a captar hongos dermatofitos incluso en muestras de aire exterior. En un estudio realizado en la Ciudad de Turín con un muestreador por impacto (SAS Pool Bioanalysis, Italy) llegaron a encontrar hasta tres especies diferentes de dermatofitos en el aire exterior. En cada muestreo se tomó un volumen total de 9,6 m³ de aire distribuidos en 20 placas (2,40 min de tiempo de succión de aire cada una) (167).

El hecho de que el riesgo a la exposición se encuentre durante las operaciones de fresado coincide con los hallazgos en el sector dental, donde varios estudios demuestran que durante la utilización de fresas unidas a piezas de mano a alta velocidad se produce un mayor escape de emisiones y salpicaduras de aerosoles (168–170).

De acuerdo con los resultados negativos obtenidos en las tomas de aire realizadas fuera del periodo de actividad (pre- y post-actividad), se puede inferir que las esporas o polvo de uña contaminado por dermatofitos no quedarían en suspensión durante periodos de tiempos prolongados una vez finalizada la operación de fresado. En las 17 clínicas, el intervalo de tiempo que transcurrió entre la muestra tomada durante la actividad y la muestra post actividad, osciló entre 16 min y varias horas.

Según estos resultados, el riesgo a la inhalación del dermatofito no estaría presente más allá de los primeros 15 ó 16 minutos, una vez terminado el fresado de la lámina ungueal, lo que contrasta con otros estudios que sugieren que las partículas más pequeñas pueden llegar a quedar en suspensión hasta 10 h (91,166).

No se descarta que la ausencia de resultados positivos en las muestras post-actividad (o incluso pre-actividad) pueda deberse a la limitación que presenta el muestreador utilizado (M Air Tester, Millipore Corp). Según la NTP 1065 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), la eficiencia de captación del muestreador M Air T para partículas con diámetro inferior a 1 micrómetro ($d_a \leq 1 \mu m$) es de aproximadamente el 5 % debido a una desecación



del agar durante la primera fase de muestreo, cuando la velocidad es de 140 l/min (78).

De acuerdo a algunas referencias (92) el 80% del polvo que se genera en las operaciones de fresado tiene un tamaño de partícula de entre 0,8 a 1,6 μm , y son estas partículas más finas la que mayor potencial tienen de quedar suspendidas en el aire, durante tiempos prolongados. Podría ser que, en esta investigación, las partículas más finas en esos rangos de tamaño no se hayan captado o no se hayan mostrado viables durante las operaciones de muestreo.

6.1.3. Importancia de la variable “sospecha de onicomycosis”

La variable de mayor importancia a la hora de obtener resultados positivos de dermatofitos en el presente estudio es la “sospecha de onicomycosis” en la lámina ungueal del paciente durante la toma de la muestra de aire en la fase de actividad (correlación estadística positiva, $p = 0,03$).

El 100% de las 8 muestras positivas ($n = 34$) proceden de pacientes cuyas láminas ungueales tenían algún tipo de signo clínico compatible con sospecha de onicomycosis. Diversos autores centran la atención en sus artículos en el hecho de que el riesgo por inhalación de dermatofitos está en las uñas contaminadas por hongos (6,126,133,134,142).

En una de las clínicas ($N^{\circ} 17$) se obtuvieron muestras positivas en los dos muestreos realizados (campañas primavera y verano). Se da la circunstancia de que esta clínica se dedica únicamente al tratamiento de uñas onicomycóticas mediante la técnica con láser, por lo que todos los pacientes atendidos presentan un diagnóstico previo de onicomycosis mediante cultivo microbiológico.

Este aspecto refuerza la importancia de dicha variable en el potencial riesgo de contaminación por dermatofitos en el aire. El resto de clínicas alternan pacientes sanos con pacientes con sospecha de onicomycosis.

A pesar de las evidencias descritas, diez (10) de los casos en los que se determinó sospecha de onicomycosis, no presentaron concentraciones apreciables de hongos dermatofitos en el aire durante las operaciones de fresado. En estas muestras negativas se da la circunstancia de que pudieron existir alteraciones en las condiciones de la toma de la muestra, tales como:

- i. Disminución del tiempo de fresado habitual (por retrasos del paciente y problemas del profesional para gestionar su agenda). En un caso el profesional no llegó a fresar la uña más de un minuto y gran parte de los siete minutos requeridos hasta completar el volumen de muestreo (1000 l) no hubo actividad de fresado;



- ii. Colocación del aparato de aire acondicionado tan cerca de la zona de muestreo que el aire que emitía “desplazaba” el polvo del fresado y;
- iii. Ventanas ligeramente abiertas durante la toma de la muestra.

Complementariamente, ninguno de los casos sin sospecha de onicomycosis presentó concentraciones detectables de hongos dermatofitos en las muestras de aire.

Por lo tanto, cabe señalar que el riesgo por inhalación de polvo de uñas contaminado con esporas de hongos dermatofitos se centraría, principalmente, en las operaciones de fresado o reducción ungueal de pacientes que presenten alguna alteración clínica compatible con diagnóstico de onicomycosis, donde sería recomendable extremar las precauciones en relación al uso de EPIs o a la utilización adecuada de sistemas de extracción, como otra de las variables de mayor importancia y que se comenta a continuación.

6.1.4. Importancia de la variable “utilización de sistema de aspiración”

La variable “uso de aspiración” ($p=0,04$) es otra de las variables que ha influido en el presente estudio. De los dos sistemas de abatimiento del polvo de uña utilizados en el sector de la podología: sistema de aspiración al vacío y sistema de spray de agua, en las clínicas analizadas en la presente investigación solo se utilizó el sistema de aspiración al vacío (12 de 17 clínicas). Ninguna de las clínicas equipadas con sistemas específicos para la retirada del polvo de uña disponía de spray de agua.

Del total de ocho (8) muestreos positivos para hongos dermatofitos, se encontró un mayor número de ellos en los casos que durante la toma de la muestra de aire no se utilizó un sistema de aspiración. En concreto, cinco de ellos (62,5%) no utilizaron dichos sistemas.

En los tres muestreos positivos restantes que sí utilizaron sistemas de aspiración, se utilizaron las dos variantes de extractor: i) sistema de cánula acoplada a la pieza de mano y ii) sistema de brazo articulado.

El haber obtenido resultados positivos, aun utilizando un sistema de aspiración durante el fresado, coincide con los estudios de otros autores que describen, desde hace ya algún tiempo, cómo estos sistemas no son del todo efectivos.

Las conclusiones de Davis y Savage, tras un estudio publicado en 1980 establecieron que, aunque la mayoría de equipos para el fresado de uñas tienen incorporados sistemas para la extracción de polvo, no todo el polvo generado es retirado fuera del área de respiración del podólogo (130). En este artículo cuentan cómo aislaron el hongo dermatofito en el aire siendo utilizados los



sistemas de aspiración, aunque parece que su publicación es inédita (unpublished) (130).

Harvey, encontró en su estudio una variación muy grande entre la captación de polvo por los distintos sistemas, de entre un 24,6 a un 91,6%, siendo el de mayor reducción de polvo el sistema de spray de agua y el de menor reducción un sistema de “adaptación libre” (brazo articulado) colocado a unos 15 - 20 cm de distancia de la fresa. Esto sugiere que, aunque el extractor reduce la cantidad de polvo en el área más inmediata, las partículas no recogidas por el extractor, quedan suspendidas en el aire, por lo que podrían ser inhaladas. El estudio presenta diversas limitaciones, una de las más importantes es que no se controló el tamaño de partícula capaz de ser absorbida por los diferentes sistemas, por lo que no es del todo concluyente, entre otros motivos que describe el autor (131).

Tanto Harvey como estudios de Blair en 1999 pusieron de manifiesto que hay variables que influyen en el tamaño de la partícula emitida como la forma de la fresa y la velocidad a la que se utilice y que, por lo tanto, en la manera en la que este polvo puede ser captado por los diferentes sistemas. (131,132).

Lo que sí se puede inferir de los estudios de Harvey y Blair es que cualquiera de los sistemas de aspiración, aunque en diferentes grados de efectividad, reducen la cantidad de polvo que se emite hacia el profesional, lo que les convierte en un elemento imprescindible a la hora de controlar la emisión del polvo ambiental y mitigar los riesgos de inhalación de dermatofitos aerotransportados.

De todos los muestreos realizados durante la actividad de fresado (n = 34) en doce de ellos (35%) el profesional no utilizó ningún sistema específico de eliminación de polvo o utilizó alguna medida rudimentaria que no aspira el polvo si no que lo dispersa (ventilador). Este porcentaje se considera elevado teniendo en cuenta que la utilización del fresado para la reducción de las uñas engrosadas es muy común en la práctica podológica (94).

De hecho, existen referencias que han demostrado una mayor prevalencia de sintomatología alérgica entre podólogos que no utilizaban sistemas de aspiración de polvo de uña frente a los que sí la utilizaban. Gatley (1991), publicó un artículo en que se había distribuido un cuestionario enviado a 327 podólogos (168 confirmaron su recepción), encontrándose que aquellos que no utilizaban un sistema de aspiración de polvo, tenían significativamente mayor prevalencia de sibilancias y patología ocular (127).

Como se ha comentado anteriormente, el sistema de aspiración es un equipamiento imprescindible a la hora del control de la emisión del polvo ambiental. Sin embargo, no es infalible, habiendo un porcentaje significativo de



casos (37,5%, 3 de 8) que dieron positivo en las muestras de aire ambiental, aun utilizando un sistema de aspiración.

Tras la revisión de todos estos factores se hace recomendable la implantación y uso de sistemas de extracción de polvo en los equipos y la utilización de equipos de protección individual, tales como gafas de protección, guantes y mascarillas conforme a los estándares de la UE y de los organismos oficiales correspondientes (98,165). También puede ser aconsejable la utilización de sistemas de filtración de aire en los gabinetes, medida que según algunos autores, puede llegar a reducir hasta en un 65% el aislamiento de contaminantes microbiológicos (171).

6.1.5. Revisión de otras variables del estudio

En general, las variables analizadas relativas a la “campana de muestreo” ($p=0,85$), la “presencia de ventanas” en la sala ($p=0,08$), su “temperatura” ($p=0,57$), las “dimensiones de la sala” ($p=0,62$), la “hora de la toma de la muestra” ($p=0,21$) y la conexión o desconexión del “Aire Acondicionado” durante la toma de muestra ($p=0,71$) no parecen tener relevancia en este estudio, al no mostrar una correlación estadística significativa.

La humedad relativa y la temperatura se mantuvieron, de forma general, dentro de los límites establecidos en todas las clínicas, con varios muestreos principalmente en verano (5) que excedieron el valor límite superior de temperatura 27°C y otro (1) en primavera. Dos de los positivos por dermatofitos mostraron una temperatura mayor al valor límite superior, aunque esta variable no se mostró significativa. Solamente una clínica presentó valores de humedad relativa inferiores a los valores límite (30%) sin haberse llegado a detectar resultados positivos. Del mismo modo que la temperatura, esta variable no se mostró significativa en el estudio.

Casi todos los muestreos positivos para dermatofitos se realizaron por la tarde (en 7 de las 8 clínicas) aunque esta variable sólo dependía de cuándo la clínica tenía citados a sus pacientes, sin que el estudio pautase un horario concreto para realizar la toma durante la actividad.

En relación a las dimensiones de la sala, cuatro de las clínicas positivas medían entre 10 y 18 metros y otras cuatro estaban entre 5-10 metros.

En cuanto a la estación en la que se realizó la campaña de muestreo (primavera o verano), seis de las ocho clínicas que dieron positivo en las muestras de aire, se analizaron durante la campaña de verano. No obstante, la variable “campaña de muestreo”, tampoco parece haber tenido significación en la presencia de



hongos dermatofitos en las muestras de aire. Los casos con sospecha fueron similares en número, tanto en primavera (8) como en verano (10).

El caso de la clínica N° 17 fue el único que dio positivos tanto en primavera (7 UFC/m³) como en verano (32 UFC/m³). Esta clínica se dedica en exclusiva al tratamiento de uñas onicomicóticas mediante la aplicación de laserterapia y recibe a pacientes que acuden a consulta con una infección muy avanzada y en muchos casos tras haber fallado los tratamientos convencionales (antimicóticos locales y orales). Otro de los factores que ha podido influir en la obtención de resultados positivos en esta clínica en ambas estaciones podría ser la no utilización de sistemas de aspiración durante el fresado de uñas onicomicóticas, tal y como se ha discutido en el apartado anterior (6.1.4).

Otro caso a comentar es el de la clínica N° 7, donde se obtuvo el máximo de concentración de colonias de dermatofitos (243 UFC/m³) en la muestra de aire analizada en la época de verano. Tampoco utilizó aspiración y la uña mostraba signos clínicos de contaminación elevada. Este hecho aislado podría estar asociado al “tipo de fresa” que el profesional pudo utilizar y que no se ha tenido en cuenta durante la realización de este estudio. Según estudios anteriores que muestran cómo el diámetro de las fresas que se utilicen puede influir en el tamaño de partícula de polvo emitido (130,172).

Aunque no sería atribuible al comentario anterior acerca de la clínica N° 7, mencionar que esta particularidad en cuanto al tamaño y forma de la fresa, la variación en su diámetro y la velocidad a la que se utilicen tienen un efecto sobre la eficacia de los sistemas de aspiración y por lo tanto en la proporción del polvo que quede en suspensión que puede variar desde un 12 a un 53% (132). Estas conclusiones se ven reforzadas en el artículo de Burrow & Mc Larnon (2006) (173).

6.2. PARTE II. Discusión: hongos filamentosos (no dermatofitos).

Tal y como se ha ido argumentando a lo largo del presente estudio, la ausencia de criterios numéricos de valoración para el caso de agentes biológicos y bioaerosoles hace que la interpretación de los resultados de una evaluación ambiental sea compleja.

Por ello, la presente investigación no ha tratado de establecer valores límite sino buscar elementos de referencia con los que poder comparar los resultados obtenidos. Estos elementos de referencia se analizan y discuten en los apartados que se han definido dentro de esta segunda parte de la discusión y que se presentan a continuación.



6.2.1. Carga fúngica encontrada en el exterior de las clínicas

De las once especies de hongos encontradas en el exterior de las clínicas, *Cladosporium* spp. fue la especie más prevalente en la atmósfera de Madrid en las localizaciones de las clínicas analizadas. Esto coincide con otros estudios realizados anteriormente en la Ciudad de Madrid en 2003 y 2004 donde se obtuvo una representatividad para esta especie de un 44,7% (39).

En cuanto a la variación estacional, *Cladosporium* spp. obtuvo su concentración máxima durante la estación de primavera con una prevalencia de 34% (233UFC/m³). En verano también fue abundante, pero en una proporción menor 23,1% (98UFC/m³). Estos hallazgos son comparables a los resultados reportados por otros estudios realizados en ciudades de distintos países en los que *Cladosporium* spp. fue la espora más abundante obtenida en los muestreos de aerobiología, lo que pone de manifiesto que es el género más abundante en la mayoría de las ciudades del mundo (174–178).

Cladosporium spp presenta un ratio 1000:1 en relación a los granos de polen habiéndose demostrado su alergenicidad en el hombre (179,180).

Las variaciones estacionales de las distintas especies en otros países se confirman en estudios que han sido realizados anteriormente. Por ejemplo, en un estudio realizado en Francia para monitorear los hongos transportados por el aire durante dos años, se obtuvo un patrón de hongos predominantes similar a los estudios del Reino Unido, con *Cladosporium* como género más abundante en verano y *Aspergillus* en otoño (181). Otro estudio en los Países Bajos mostró que los picos en el número global de hongos ocurrieron de mayo a septiembre, con los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* como los más prevalentes en otoño e invierno (182).

Sin embargo, estudios realizados en la Ciudad de Madrid por Sáenz y Gutiérrez en 2003 y otros realizados en Barcelona muestran que las variaciones en la concentraciones de *Cladosporium* spp. a lo largo del año son mucho menores que en otras ciudades españolas como Córdoba, Granada, León y Orense (183). Por lo que concluyen que la variación estacional en la concentración de *Cladosporium* es similar en Madrid y Barcelona por pertenecer a núcleos urbanos y que, además, hay menos esporas de este conidio que en las atmósferas de ciudades más pequeñas, con entorno próximo de carácter rural, como es el caso de Córdoba o Granada (23).

En el estudio actual, otras especies como *Aspergillus* solo obtuvieron una representatividad del 6% en primavera (33UFC/m³) siendo la quinta especie en importancia y de 8,3%(46UFC/m³) en la estación de verano situándose como la cuarta especie más prevalente. El bajo recuento de *Aspergillus* puede



explicarse, según Mullins et al (1976) a que este hongo se encuentra en concentraciones más elevadas en las épocas invernales por la disponibilidad de desechos vegetales ricos en nutrientes provenientes de hojas caídas lo que promueve el crecimiento del hongo (184).

Algunas de la especies que se situarían en orden de importancia, obtenidas en el exterior en el presente estudio, detrás de *Cladosporium*, fueron *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp. Estos resultados concuerdan con los resultados que obtuvieron Gómez de Ana et al. en el estudio publicado en 2006 y realizado en Cataluña entre 2004 y 2005 en donde se analizaron los domicilios de personas con patología alérgica. En él, los géneros con más relevancia hallados en el exterior y también en el interior fueron, en el siguiente orden: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Alternaria*. A pesar de ser un estudio realizado durante las cuatro estaciones del año, no se encontró significación estadística entre las especies obtenidas en el exterior y las diferentes estaciones del año (excepto para *Alternaria*). Este hecho se asemeja a la ausencia de significación estadística observada en las especies de exterior del presente estudio aunque, en este caso, no se dispone de información durante las estaciones más frías, con objeto de establecer una comparativa más completa frente al estudio llevado a cabo en Cataluña (90).

En cuanto a la carga fúngica total encontrada en el exterior, fue mayor la observada en la estación de primavera que en la de verano, siendo el análisis estadístico significativo para este contraste ($p=0,0130$). Este resultado contradice a otros estudios realizados en otras ciudades del mundo en los que en la estación de verano fue, por lo general, un período en el que la carga microbiana fue mayor tanto para hongos como bacterias (185,186). Esta discrepancia estacional podría deberse a que estos estudios se llevaron a cabo en ciudades con climas que tienen características diferentes a la Ciudad de Madrid. En las ciudades continentales con temperaturas frías y climas húmedos, sus veranos serían equivalentes a la primavera de la ciudad de Madrid.

Habitualmente, una temperatura y humedad relativa ambiental más alta favorecen el crecimiento microbiano (187). En Madrid, con la ausencia de precipitaciones y temperaturas elevadas en verano, la concentración de esporas es menor que en primavera y otoño, estaciones en las que se dan condiciones más favorables para el crecimiento de los hongos (23,39).

6.2.2. Carga fúngica encontrada en el interior de las clínicas

Las especies aisladas en el ambiente interior, por orden de importancia han sido: *Cladosporium* spp.; *Penicillium* spp.; *Paecilomyces* spp., *Alternaria* spp.; *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp., Mucorales, *Trichoderma* spp., *Scopulariopsis*



spp., Levaduras, *Drechslera* spp., *Ulocladium* spp., *Absidia* spp. *Cladosporium* spp. *Penicillium* spp. fueron también las especies más prevalentes en exteriores.

Algunas de estas especies han sido aisladas previamente en un estudio realizado por Cristóbal et al. (2001) en el área urbana de Madrid para analizar la calidad del ambiente en interiores. Sin embargo, los porcentajes de prevalencia en el estudio realizado en 2001 difieren con los del presente estudio, encontrándose en el primero, porcentajes elevados de levaduras e incluso varias especies de dermatofitos. Estas discrepancias puede ser debido a varios motivos, entre ellos: (i) las características de los edificios estudiados (administración, salud, gestión pública y enseñanza) que tienen una afluencia de público muy elevada y previsiblemente una mayor flora microbiológica en el interior de los mismos y, (ii) la metodología utilizada (188).

Sin embargo, la biodiversidad encontrada en el presente estudio coincide con otros estudios que señalan estos géneros hallados como los principales géneros de hongos encontrados en el aire interior. Todos han sido descritos como potencialmente patógenos para el ser humano (4,5).

Los géneros mas prevalentes en interior tanto en primavera como en verano fueron *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp. Les siguen en importancia *Paecilomyces* spp. *Curvularia* spp., *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp. Estas especies junto con *Scopulariopsis* spp. forman parte de la microbiota habitual de hospitales (189,190).

Pero estas especies forman también parte de muchos otros ambientes estudiados con anterioridad. Podemos consultar el caso de un estudio realizado en una universidad española (2009) en el que los hongos más frecuentes encontrados en el aire interior fueron *Cladosporium* spp. con mayor frecuencia, seguido de *Alternaria* spp., *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp.(191). En otro estudio realizado por Borrego et al. (2014) en dos depósitos del Archivo Nacional de Cuba, además de los géneros de hongos predominantes que fueron *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp.; se detectaron otros como *Curvularia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucor* y *Chrysosporium* (192).

Las levaduras, aunque en una proporción muy baja (1,3%), también se han obtenido en este estudio, aumentando su representatividad en la estación de verano. Este moho también se encuentran en el ambiente hospitalario de forma habitual y merece especial atención. Las levaduras, en especial, las del género *Cándida* spp. destacan entre los hongos oportunistas ya que son la principal causa de fungemia. Todas las especies de *Cándida* spp. causan un espectro similar de enfermedades que va desde la candidiasis oral hasta enfermedades invasivas como artritis, osteomielitis, endocarditis, endoftalmitis y meningitis (4).



El componente estacional (primavera / verano) no tiene influencia en la concentración total obtenida en el interior de las clínicas, pero sí se ha observado que los valores de la carga de interior fluctúan acordes con la exterior, aumentando o disminuyendo dependiendo de si es primavera o verano respectivamente. Esto confirma la idea de que los hongos que encontramos en espacios interiores son aquellos que han penetrado desde el exterior sorteando las barreras físicas que se interponen entre ambos ambientes (9).

En los equipos y sistemas de climatización se pueden dar las condiciones idóneas para el crecimiento y dispersión de los microorganismos o agentes biológicos (70). En este estudio, durante la estación de verano, la mayoría de las clínicas mantuvieron encendido el aire acondicionado antes de comenzar la actividad y durante la actividad. Aún así, los valores de la concentración fúngica han descendido considerablemente durante esta estación. Por lo tanto, en el presente estudio se puede afirmar que los sistemas de aire acondicionado no constituyen, en principio, una fuente de incremento en el número de contaminantes fúngicos en el aire interior de las clínicas.

6.2.3. Comparación Interior-Exterior.

Las relaciones cuantitativas que existan entre el ambiente “a evaluar” (ambiente interior) y el ambiente “control” (ambiente exterior) constituyen uno de los principales criterios que establecerá si un ambiente interior presenta o no signos de posible contaminación y si ha de realizarse estudios más en profundidad que aclaren de dónde puede proceder esa supuesta contaminación.

Ante la ausencia de normativa específica aplicable a las clínicas de podología y, de acuerdo con la revisión realizada tanto bibliográfica como de la normativa actual detallada en el apartado 1.3.5 y, teniendo en cuenta que las salas de quiropodología no precisan de condiciones totalmente estériles para el tipo de actividad que se realiza en ellas, se ha considerado que la norma UNE 171330-2:2014 podría ser utilizada como referencia comparativa para este tipo de salas, la cual define un “criterio confort” establecido en 200UFC/m³.

Además, se han tenido en cuenta otra serie de referencias/guías internacionales que parecen las más representativas y que también han sido utilizadas en el presente estudio, al no requerir las salas de quiropodología ambientes completamente estériles: (i) Indoor Air Quality in Office Buildings- Health Canadá (ii) Indoor Air Quality and its impact on man-Commission of the European Communities.

En general, las concentraciones promedio halladas en el interior de las clínicas, excepto casos puntuales y con rangos de discrepancia muy bajos, fueron siempre menores que las cargas encontradas en el exterior. Estas discrepancias



se dieron en tres clínicas en la estación de primavera, nº12, nº15 y nº16 y en cinco clínicas en la estación de verano (nº1, nº 3, nº 10, nº13 y nº 14). No se descarta que este hecho pueda deberse a aspectos propios metodológicos, como que solamente se disponga de una única toma para el exterior y tres muestras en el interior de las clínicas. Es conocida la variabilidad de esporas intradiurna (41,179), por lo que haber tomado una muestra en el exterior, de forma simultánea, antes de cada toma de interior quizá hubiera sido más representativo para contrastar los dos ambientes. Además, para tener una caracterización completa de la contaminación microbiana en el aire interior se recomienda la utilización de, al menos, dos técnicas distintas para los muestreos (muestreo continuo para el recuento de microorganismos totales en el día y un muestreo de microorganismos viables o no viables para la caracterización microbiológica) (77).

A pesar de estas ligeras discrepancias entre interior-exterior, la concentración de cada una de las especies fue siempre inferior en el interior frente al exterior. Este criterio es importante, ya que establece una relación natural de equilibrio entre la concentración exterior y la concentración interior que procede, principalmente, del ambiente de fuera de los edificios y que penetra al interior de los edificios a través de las ventanas, puertas y tomas de aire.

Los criterios para la concentración interior, por especies, que establece la Guía publicada por Health Canadá, se han cumplido en todas las clínicas, no superándose la concentración de 50UFC/m³ para ninguna de las especies observadas excepto para el caso de *Cladosporium* spp. que llegó a 85UFC/m³ en la clínica nº12 en la estación de primavera y a 65UFC/m³ en la clínica nº10 en la estación de verano, siendo este incremento para esta especie considerado como algo normal por dicha guía, puesto que es una especie ubicua.

Finalmente, los valores de concentración total interior para cada una de las clínicas, fueron siempre menores de 200UFC/m³, criterio de confort que propone la normativa española UNE 171330-2(2014) y que es aplicable a todos los ambientes, en todo tipo de recintos, instalaciones y edificaciones, exceptuando aquellas destinadas a actividades agrícolas o industriales. Por lo tanto, de acuerdo a dicha norma, se puede afirmar que el ambiente interior de las clínicas de podología en este estudio no se considera molesto para la mayoría de la población que acuda a ellas.

Crook y Burton, en una revisión realizada en el 2010, mencionan que algunos países disponen de guías con especificaciones en cuanto al número de microorganismos en el interior de edificaciones no industriales. En Suiza niveles mayores a 1000 UFC/m³ son indicativos de contaminación. En Europa las



especificaciones establecen que 500 UFC/m³ representan un nivel intermedio, a partir del cual se deben tomar medidas correctivas, en especial, cuando los ocupantes del edificio expongan quejas de salud como dolores de cabeza, fatiga y tos. Niveles superiores a 1000 UFC/m³ indican un alto nivel de contaminación (193).

Hay estudios realizados en ambientes de características muy distintas, como edificios de apartamentos (177), escuelas (194), guarderías infantiles (195) o en conferencias (196). En estos estudios, las concentraciones de hongos en el aire interior fueron siempre inferiores a las del aire exterior, y los hongos más comunes en el aire (tanto en interiores como al aire libre) fueron *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp.

Se confirma en otros estudios que, independientemente del tipo de microambiente, el orden de concentración para hongos individuales en el aire interior y exterior fue *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. y *Aspergillus* spp. en orden descendente, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio así como de hogares en el noreste de América (185,187), y escuelas y oficinas en Copenhague, Dinamarca (197) lo que da consistencia a los resultados de este estudio, a pesar de las posibles limitaciones metodológicas comentadas anteriormente.

6.2.4. Otras limitaciones del estudio

Algunas de las limitaciones inherentes al presente estudio han sido comentadas en el apartado anterior. Es importante recordar algunas otras relativas al equipo M air T utilizado a la hora de evaluar la representatividad de las concentraciones detectadas en los ambientes evaluados.

Estas limitaciones se centran, principalmente, en la desecación que puede sufrir el agar de M air T durante la primera etapa de 140l/min. En estudios donde se contrasta la efectividad de captación comparando distintos tipos de muestreadores volumétricos por impacto, se sabe que hay una significación estadística positiva entre la desecación que sufre el medio de cultivo y los microorganismos recuperados, reduciéndose la concentración de microorganismos en función del tiempo de muestreo. Por tanto, se recomienda reducir en todo lo posible el tiempo de muestreo para evitar esta baja representatividad microbiológica debido a la desecación del agar (198).

Por otro lado, cuando se espera una baja representatividad de los microorganismos que se investigan, el tiempo de muestreo ha de ser el máximo posible para tener margen de captación, criterio que ha sido utilizado en el presente estudio.



La limitación más relevante del presente estudio se centra en el reducido número de clínicas muestreadas y cuyos resultados no pueden extrapolarse a la Ciudad de Madrid y, mucho menos, a la Comunidad de Madrid como se pretendía inicialmente. A la hora del reclutamiento de las clínicas para participar en este estudio, hubo clínicas que declinaron participar debido a condicionantes tanto logísticos como organizativos, entre otros, que redujeron el número de clínicas dispuestas a participar y que no permitió alcanzar una población suficiente de clínicas estadísticamente representativas de la Ciudad o de la Comunidad de Madrid. Por tanto, esta investigación pretende ser un estudio piloto, con el objetivo de realizar una valoración preliminar del ambiente interior de las clínicas de podología analizadas en la Ciudad de Madrid. La intención de este estudio es ayudar a conocer mejor los ambientes laborales de la profesión de la podología que, por sus características operativas, podrían generar una carga ambiental que es importante conocer de cara a cuidar la salud de quienes trabajan en dichos ambientes.

No hay, en la actualidad, estudios realizados en clínicas de podología en España, cuyos resultados puedan compararse con los obtenidos en esta investigación. Los estudios llevados a cabo por Coggins et al. en 15 clínicas de Irlanda, durante el verano y otoño del 2010, utilizando un impactador en cascada de seis etapas, muestran un rango de concentración fúngica interior que osciló de 45,1UFC/m³ a 1914,3 y de N.D (no detectado) a 1028,2UFC/m³ para mohos y levaduras. Esta discrepancia de concentración con respecto a la investigación actual en la que la concentración interior no superó las 200UFC/m³ puede deberse en gran parte a diferencias climatológicas (humedad relativa, precipitaciones, temperatura, etc) que juegan un papel muy importante en la diversidad y cantidad de hongos presentes en el ambiente.

CONCLUSIONES



7. CONCLUSIONES

1. El estudio confirma la presencia de dermatofitos viables únicamente en las muestras de aire analizadas durante el período actividad y durante el fresado de uñas de pacientes con “sospecha de onicomicosis”.
2. Las dos especies de hongos dermatofitos aislados fueron *Trichophyton rubrum* (en el 75% de las muestras) y *Trichophyton mentagrophytes*.
3. Algunos positivos por dermatofitos se dieron incluso utilizando “sistemas de aspiración” del polvo de uña por lo que estos sistemas, si bien disminuyen la cantidad de polvo emitido, no son infalibles.
4. *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp. fueron las especies más prevalentes tanto en el interior como en el exterior de las clínicas, así como para la estación de primavera y verano. Sus niveles fluctuaron acordes a la variación exterior, lo que confirma que estos hongos son los que han penetrado desde fuera sorteando las barreras físicas entre ambos ambientes.
5. Si bien para la carga exterior en las clínicas se observa una influencia estacional, la carga encontrada en el interior de las mismas no presenta esta influencia, manteniéndose el ambiente interior de las clínicas, similar en ambas estaciones de primavera y verano.
6. La carga fúngica en el interior disminuye, de forma general, a lo largo de la jornada laboral. Esta disminución no es significativa, por lo que se concluye que la circulación de personas por la sala así como la actividad que se realiza en el interior de las mismas no han influido en la concentración detectada.
7. Ni la temperatura ni el resto de variables analizadas han influido significativamente en la concentración fúngica del presente estudio, con la excepción puntual de la humedad relativa.
8. La concentración de hongos filamentosos detectada en el aire interior de las clínicas no excede el “Criterio Confort” establecido por la norma UNE 171330:2 del 2014, que lo sitúa en 200UFC/m³. Por lo que se concluye que el ambiente interior de las clínicas analizadas no será molesto para la mayoría de las personas que acudan a ellas.
9. El resto de criterios propuestos por otras organizaciones internacionales se han cumplido de forma general, exceptuando casos puntuales cuyos rangos de discrepancia han sido muy bajos.

BIBLIOGRAFÍA



8. BIBLIOGRAFIA

1. Srikanth P, Sudharsanam S, Steinberg R. Bio-aerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian J Med Microbiol.* 2008;26(4):302–12.
2. Angenent LT, Kelley ST, St Amand A, Pace NR, Hernandez MT. Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 [cited 2015 jan 11];102(13):4860–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=555732&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
3. De La Rosa M, Mosso M., Ullán C. El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Obs Medioambient* [Internet]. 2002 [citado 17 mar 2015];5:375-402. Available from: <http://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/view/22909>
4. Cordeiro RA, Brilhante RSN, Pantoja LDM, Moreira Filho RE, Vieira PRN, Rocha MFG, et al. Isolation of pathogenic yeasts in the air from hospital environments in the city of Fortaleza, northeast Brazil. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2010 [cited 2016 jun 9];14(1):30–4. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=20428651>
5. Kasprzyk I. Aeromycology - Main research fields of interest during the last 25 years. Vol. 15, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2008;15(1): 1–7.
6. Coggins MA, Hogan VJ, Kelly M, Fleming GTA, Roberts N, Tynan T, et al. Workplace exposure to bioaerosols in podiatry clinics. *Ann Occup Hyg.* 2012;56(6):746–53.
7. Hammer TR, Mucha H, Hoefer D. Infection Risk by Dermatophytes During Storage and After Domestic Laundry and Their Temperature-Dependent Inactivation. *Mycopathologia.* 2011;171(1):43–9.
8. Bovallius KE, Butch B, Roffey R, PER A. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four locations in Sweden. *Appl Environ Microbiol.* 1978;35(5):847–52.
9. Comtois P, Marcoux N. An indoor air model. *Aerobiologia* (Bologna).



- 1999;15(2):115–20.
10. Kim KY, Kim YS, Kim D. Distribution characteristics of airborne bacteria and fungi in the general hospitals of Korea. *Ind Health*. 2010;48(2):236–43.
 11. Tormo Molina R, Gonzalo Garijo M, Muñoz Rodríguez A, Silva Palacios I. Pollen and spores in the air of a hospital out-patient ward. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2002 [cited 2016 Sep 23];30(4):232–8. Available from: <http://www.elsevier.es/en-revista-allergologia-et-immunopathologia-105-articulo-pollen-spores-in-air-hospital-13035418>
 12. Stetzenbach LD, Buttner MP, Cruz P. Detection and enumeration of airborne contaminants. *Curr Opin Biotechnol*. 2004;15(3):170–4.
 13. Camuffo D, Brimblecombe P, Van Grieken R, Busse HJ, Sturaro G, Valentino A, et al. Indoor air quality at the Correr Museum, Venice, Italy. *Sci Total Environ*. 1999;236(1–3):135–52.
 14. Kalogerakis N, Paschali D, Lekaditis V, Pantidou A, Eleftheriadis K, Lazaridis M. Indoor air quality - Bioaerosol measurements in domestic and office premises. *J Aerosol Sci*. 2005;36(5–6):751–61.
 15. Pasanen A, Kasane J, Rautiala S, Ikäheimo M, Rantamäki J, Kääriäinen H, et al. Fungal growth and survival in building materials under fluctuating moisture and temperature conditions. *Int Biodeter & Biodegrad*. 2000;46(2):117–27.
 16. Kulmala M, Asmi A, Pirjola L. Indoor air aerosol model: The effect of outdoor air, filtration and ventilation on indoor concentrations. *Atmos Environ*. 1999;33(14):2133–44.
 17. Macher J, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, editores. *Bioaerosols: Assessment and control* [Internet]. Cincinnati: ACGIH; 1999 [cited 2017 feb 16]. Available from: <http://www.acgih.org/forms/store/ProductFormPublic/bioaerosols-assessment-and-control>
 18. De la Rosa M, Ullán C, Prieto M, Mosso M. Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica. *An Real Acad Farm* [Internet]. 2000 [citado 14 mar 2016]. 2000;66(2):1–17. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/43>
 19. Marta Morales I, Blanco Acevedo V, García Nieto A. Calidad del Aire Interior en Edificios de uso Público [Internet]. Madrid: Dirección General de Ordenación e Inspección. Conserjería de Sanidad de la Comunidad de Madrid; 2010 [citado 15



- nov 2016]. Disponible en:
http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=CM_Publicaciones_FA&cid=1142651537984&language=es&pagename=ComunidadMadrid%2FEstructura&site=ComunidadMadrid
20. Marta Morales I, Blanco Acevedo V, García Nieto A. Guía de Gestión de la Sanidad Ambiental en Edificios de Uso Público [Internet]. Madrid: Dirección General de Ordenación e Inspección. Conserjería de Sanidad de la Comunidad de Madrid; 2011 [citado 17 nov 2016]. Disponible en:
<http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM009952.pdf>
21. Guadino Solá X, Crump D, Berenguer MJ, Hoffman D, Wynder EL, Rossel Farrás MG, et al. Capítulo 44: Calidad del aire interior. En: Ackermann-Liescrich U, Adán Liébana E, Amendola AA, Anderberg Y, Anderson R, Andreoni D, et al editors. Enciclopedia de la Organización Internacional del Trabajo. [Internet]. Madrid: Instituto Nacional de Seguridad, Salud e Higiene en el Trabajo; 2012. Capítulo 44 (Vol II):p. 44.1-44.28 [citado el 25 nov 2016]. Disponible en:
www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/44.pdf
22. Martins-Diniz J, da Silva R, Miranda E, Mendes-Giannini M. Monitoring of airborne fungus and yeast species in a hospital unit. Rev. Saúde Pública [Internet]. 2005 [citado 11 febr 2015]; Vol. 39(3):398–405. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S003489102005000300010&script=sci_arttext&tlng=en
23. Sáenz Laín C, Gutiérrez Bustillo M. Esporas atmosféricas en la Comunidad de Madrid [Internet]. Madrid: Conserjería de Sanidad; 2003 [citado 22 de may 2017]. Documentos técnicos de Salud Pública:83. Disponible en:
<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadervalue1=Content-Disposition&blobheadervalue2=filename%3DEsporas+atmosf%C3%A9ricas+en+la+Comunidad+de+Madrid.pdf&blobheadervalue3=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1220696571094&ssbinary=true>
24. Kasprzyk I, Worek M. Airborne fungal spores in urban and rural environments in Poland. Aerobiologia (Bologna) [Internet]. 2006 [cited 2015 jan 18]; 22(3):169–76. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10453-006-9029-8>



25. Nikkels AH, Terstegge P, Spijksma FTM. Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores at Leiden, The Netherlands. *Aerobiologia* (Bologna) [Internet]. 1996 [cited 2015 febr 14];12(1):107–12. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF02248134>
26. Hasnai S. Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana*. 1993;32(3):184–8.
27. Lim S, Chew F, Binti Mohd Dali S, Wah Tan H, Lee B, Tan T. Outdoor airborne fungal spores in Singapore. *Grana*. 1998;37(4):246–52.
28. Calderon C, Lacey J, McCartney H, Rosas I. Seasonal and Diurnal Variation of Airborne Basidiomycete Spore Concentrations in Mexico City. *Grana*. 1995;34(4):260–68.
29. Klarić MŠ, Pepeljnjak S. A year-round aeromycological study in Zagreb area, Croatia. *Ann Agric Environ Med*. 2006;13(1):55–64.
30. Mankevičiene A, Butkute B, Dabkevičius Z, Suproniene S. Fusarium mycotoxins in Lithuanian cereals from the 2004-2005 harvests. *Ann Agric Environ Med*. 2007;14(1):103–7.
31. Hjelmroos M. Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables: Cladosporium and Alternaria. *Grana*. 1993;32(1):40–47.
32. Ahearn DG, Price D, Simmons RB, Mayo A, Zhang ST, Crow SA. Microcycle conidiation and medusa head conidiophores of aspergilli on indoor construction materials and air filters from hospitals. *Mycologia* [Internet]. 2007 [cited 2016 apr 19];99(1):1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17663117>
33. Higuero T, Silvestre E, Maroto P, Figols M, Sánchez de León Linares LJ, Odrizola M, et al. Guía de Calidad d el aire interior [Internet]. Madrid: Dirección General de Industria, Energía y Minas de la Comunidad de Madrid; 2016 [citado 15 ene 2017]. Disponible en: <https://www.fenercom.com/pages/publicaciones/publicacion.php?id=231>
34. Canto C, Jiménez C. Estudio de los hongos en el ire de Madrid durante un año. *Rev Clínica Esp*. 1945;17:226–39.
35. Subiza E, Jerez M. Concentración de Esporas de Hongos en la Atmósfera de Madrid (Método volumétrico). En: Solé de Portal N y Suárez Cervera M. *Actas del IV simposium de palinología*. Barcelona: Publicacions i edicions de la Universidad de Barcelona; 1983. p (277-93)



36. Muñoz M, Colomino L, Rodríguez M, Aranda J, De Buen C. Identificación y distribución de los hongos aerovagantes intra y extradomiciliarios en Madrid. *Rev Iber Micol*. 1988;5:5–10.
37. Resano A, Sanz ML, Oehling A. Sensitization to *Alternaria* and *Cladosporium* in asthmatic patients and its in vitro diagnostic confirmation. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1998;8(6):353–8.
38. Paya Vicens M. Contribución al estudio de la micoflora atmosférica de la Ciudad de Madrid [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense, 1981.
39. Sabariego S, Díez A, Gutiérrez M. Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). *Acta Bot Croat*. 2007;66(2):117–26.
40. Aránguez E, Bardón R, Fúster F, Marino E, Ordóñez JM, Ribes MA. Calidad del ambiente en espacios interiores [Internet]. Madrid: Dirección General de Ordenación e Inspección y Conserjería de Sanidad de la Comunidad de Madrid; 2012 [citado 13 may 2016]. Ref. 17235. Disponible en: http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=CM_Publicaciones_FA&cid=1142686563678&idConsejeria=1109266187266&idListConsj=1109265444710&idPagina=1343068184449&language=es&pagename=ComunidadMadrid%2FEstructura&pid=1109265444699&site=ComunidadMadrid&sm=1109266101003
41. Levetin E, Shaughnessy R, Fisher E, Ligman B, Harrison J, Brennan T. Indoor air quality in schools: exposure to fungal allergens. *Aerobiologia* (Bologna). 1995;11(1):27–34.
42. Fernandez A, Borja F, García M. De los miasmas a los edificios enfermos: Hongos en el interior. *Rev Coplutense Ciencias Vet*. 2007;1(2):277–87.
43. Dearborn D, Yike I, Sorenson W, Miller M, Etzel R. Overview of investigations into pulmonary hemorrhage among infants in Cleveland, Ohio. *Environ Health Perspect*. 1999;107(3):495–99.
44. Crook B. Aerobiological investigation of occupational respiratory allergy in agriculture in the U.K. *Grana*. 1994;33(2):81–84.
45. Singh J. Impact of indoor air pollution on health, comfort and productivity of the occupants. *Aerobiologia* (Bologna). 1996;12(2):121–27.
46. Beguin H. Mould biodiversity in homes II: Analysis of mattress dust. *Aerobiologia* (Bologna). 1995;11(1):3–10.



47. Beguin H, Nolard N. Prevalence of fungi in carpeted floor environment: Analysis of dust samples from livings-rooms, bedrooms, offices and schools classrooms. *Aerobiologia* (Bologna). 1996;12:113–20.
48. Syzdek L, Haines J. Monitoring *Aspergillus fumigatus* aerosols from a composting facility. *Aerobiologia* (Bologna). 1995;11(2):87–93.
49. Simeray J, Mandin D, Chaumont J. Variations in the distribution of fungal spores in the atmosphere of bakehouses. Impact on the study of allergies. *Grana*. 1995;34(4):269–74.
50. García-Pantaleón F, Romero J, Vilches E, Soldevilla C, Molina A, Jurado D. Presence of *Aspergillus* Mich. ex Fr. in several different biotopes in Córdoba (Spain). *Aerobiologia* (Bologna). 1995;11(2):137–43.
51. Singh A, Singh A. Airborne fungi in a bakery and the prevalence of respiratory dysfunction among workers. *Grana*. 1994;33(6):349–58.
52. Raper KB, Fennell DI, editores. The genus *Aspergillus*. Baltimore: Willians and Wilkins;1965.
53. Srikanth P, Sudharsanam S, Steinberg R. Bioaerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian J Med Microbiol*. 2008;26(4):302–12.
54. Observatorio de Salud y Medio Ambiente de Andalucía. Calidad del aire interior [Internet]. Algeciras: Junta de Andalucía. Consejería de Salud; 2011 [citado 11 dic 2016]. Disponible en: <http://www.osman.es/project/calidad-del-aire-interior-guia/>
55. Real Decreto-ley 31/1995, de 8 de noviembre, de BOE núm 269 J del E. Ley 31/1995, de 8 de noviembre. Prevención De Riesgos Laborales. (Boletín Oficial del Estado, número 269, de 10 de noviembre de 1995).
56. Real Decreto-ley 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.(Boletín Oficial del Estado, número 124, de 24 de mayo de 1997).
57. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos [Internet]. Madrid: INSHT; 2014 [citado 10 mayo 2016]. GT.108.1.14. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.1f1a3bc79ab34c578c2e8884060961ca/?vgnextoid=fac9960228ba4110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&vgnnextchannel=25d44a7f8a651110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD>



58. Real Decreto-ley 1027/2007, de 20 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios. (Boletín Oficial del Estado, número 207, de 29 de agosto de 2007).
59. Asociación Española de Normalización y Acreditación. UNE 100012: 2005 Higienización de sistemas de climatización [Internet]. Madrid: AENOR; 2005 [citado el 12 jul 2016]. Disponible en: <https://www.aenor.es/aenor/normas/buscadornormas/buscadornormas.asp#.WgWEuYWcGhc>
60. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE 171330-1:2008 Calidad en ambientes interiores. Parte 1: Diagnóstico de calidad ambiental interior [Internet]. Madrid: AENOR; 2008 [citado el 12 jul 2016]. Disponible en: <http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma.asp?tipo=N&codigo=N0041499#.WXYMYrZFW>
61. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE 171330-2:2014 Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior. AENOR; 2014.
62. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE_171340: 2012 Validación y cualificación de salas ambiente controlado en hospitales. AENOR; 2012.
63. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE 171330-3:2010 Calidad ambiental en interiores. Parte 3: Sistema de gestión de los ambientes interiores [Internet]. Madrid: AENOR; 2010 [citado el 12 jul 2016]. Disponible en: <https://www.aenor.es/aenor/normas/buscadornormas/buscadornormas.asp#.W>
64. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE 100713:2005 Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales. AENOR; 2005.
65. Asociación Española de Normalización y Certificación. UNE-EN 13098:2001 Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la medición de microorganismos y endotoxinas en suspensión en el aire [Internet]. Madrid: AENOR; 2001 [citado el 12 jul 2016]. Disponible en: <https://www.aenor.es/aenor/normas/buscadornormas/buscadornormas.asp#.WgWEuYWcGhc>
66. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 243: Ambientes cerrados: calidad del aire [Internet]. Madrid: INSHT; 1989 [citado el 16 ener 2016].



- NIPO: 211-90-011-7. Disponible en:
<http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
67. Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 299: Método para el recuento de bacterias y hongos en aire [Internet]. Madrid: INSHT;1991 [citado el 16 ene 2016]. NIPO: 211-94-008-1. Disponible en:
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/201a300/ntp_299.pdf
68. Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 335 : Calidad de aire interior. Evaluación de la presencia de polen y espora fúngicas [Internet]. Madrid: INSHT; 1992 [citado el 16 ene 2016]. NIPO: 211-95-013-0. Disponible en:
<http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
69. Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 488: Calidad de aire interior. Identificación de hongos [Internet]. Madrid: INSHT;1998 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en:
<http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
70. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 313: Calidad del aire interior. Riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización [Internet]. Madrid: INSHT; 1993 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
71. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 431: Caracterización de la calidad del aire en ambientes interiores [Internet]. Madrid: INSHT;1996 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en:
<http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
72. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 607 : Guías de calidad de aire interior. Contaminantes químicos. Introducción. Madrid: INSHT [citado el 16 ene 2016]. Disponible en:
<http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
73. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 608: Agentes



- biológicos. Planificación de la medición [Internet]. Madrid:INSHT; 2001 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_608.pdf
74. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I) [Internet]. Madrid: INSHT; 2001 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
75. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 610: Agentes biológicos. Equipos de muestreo (II) [Internet]. Madrid: INSHT; 2001 [citado el 16 ene 2016]. NIPO: 211-03-001-0. Disponible en: http://comisionnacional.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_610.pdf
76. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 611: Agentes biológicos: análisis de las muestras [Internet]. Madrid: INSHT; 2001 [citado el 16 ene 2016]. Disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_611.pdf
77. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 1064. Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II) [Internet]. Madrid: INSHT; 2015 [citado el 16 ene 2016]. NIPO: 272-15-025-5. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
78. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NTP 1065. Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II) [Internet]. Madrid: INSHT; 2015 [citado el 16 ene 2016]. NIPO: 272-15-025-5. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10060961ca/?vgnnextoid=db2c46a815c83110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&page=1>
79. American Society of Heating Refrigerating and Air Conditioning Engineers. Standards and Guidelines [Internet]. Atlanta: ASHRAE; 2017 [cited 2016 jan 16]. Available from: <https://www.ashrae.org/standards-research--technology/standards--guidelines>
80. Adamkiewicz G, Choi H, Delgado Saborit JM, Harrison P, Harrison RM, Henderson



- RF, et al. Guidelines for Indoor Air Quality: household fuel combustion [Internet]. World Health Organization Regional Office for Europe. Copenhagen: WHO; 2010 [cited 2016 jan 16]. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/air-quality/publications/2010/who-guidelines-for-indoor-air-quality-selected-pollutants>
81. Nathanson T. Indoor Air Quality in Office Buildings: A Thechnical Guide. [Internet]. Ottawa (Ontairo): Publics Works and Government Services-Health Canadá;1995 [cited 2016 jan 16]. Available from: <http://publications.gc.ca/collections/Collection/H46-2-93-166Erev.pdf>
82. Goyer N, Lavoie J, Lazure L, Marchand G, Allard R, Bhérer L. Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide (Technical Guide T-24) [Internet]. Montreal (Québec): Institut de recherché Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRRSST); 2001 [cited 2016 jan 16]. Available from: <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PublRSST/T-24.pdf>
83. Baubiologie Maes/ Institut für Baubiologie+Nachhaltigkeit. Valores indicativos en baubiologie para las zonas de descanso. Complemento a la Norma Técnica de medición en baubiologie SBM-2015 [Internet]. Baubiologie Maes (IBN). Rosenheim; 2015 [citado 16 enero 2016]. Disponible en: <http://www.baubiologie.es/mediciones>
84. Real Decreto-ley 1277/2003, de 10 de octubre, por el que se establecen las bases generales sobre autorización de centros, servicios y establecimientos sanitarios. (Boletón Oficial del Estado, número 254, de 23 de octubre de 2003).
85. Comunidad de Madrid. Prevención y control de enfermedades transmisibles. Recomendaciones en odontoestomatología [Internet]. Madrid:Comunidad de Madrid-Conserjería de Sanidad; 2010 [citado 20 nov 2016]. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=ContentDisposition&blobheadervalue1=filename%3DBVCM017433.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1352901583981&ssbinary=true>
86. Sociedad Andaluza de Medicina y Salud Pública. Recomendaciones para la monitorización de Calidad Microbiológica del Aire (Bioseguridad Ambiental) en Zonas Hospitalarias de riesgo [Internet]. SAMPS; 2014 [citado 20 nov 2016]. Disponible en: <http://www.sociedadandaluzapreventiva.com/wp-content/uploads/Recomendaciones-Bioseguridad.pdf>
87. Pastor P. Documentos Técnicos de Instalaciones en la Edificación. DTIE 1.06: Instalaciones de Climatización en Hospitales [Internet]. Madrid: Asociación Técnica



- Española de Climatización y Refrigeración (ATECYR); 2012 [citado 20 nov 2016]. Disponible en: <https://www.atecyr.org/eATECYR/ventas/products/pdf/572f3f213bdedc5e4c853cb693443d45cd69c30.pdf>
88. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Biological Exposure Indices [Internet]. Cincinnati, OH: ACGI; 2005 [cited 2015 apr 12]. Available from: http://www.stps.gob.mx/DGIFT_STPS/PDF/2005TLVsBEIsofACGIHHandbook.pdf
 89. Commission of the European Communities. European Collaborative Action Indoor Air Quality and its Impact on Man [Internet]. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities;1993 [cited 2016 sept 17]. Available from: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/859b1f78ea84-44a1-a045-c230c2283c9e/language-en>
 90. Gómez de Ana S, Torres-Rodríguez JM, Alvarado Ramírez E, Mojal García S, Belmonte-Soler J. Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006;16(6):357–63.
 91. Purkiss R. An assessment of the airborne dust in podiatric treatment areas, and its relevance to the use of respiratory protective equipment. *J Bri Pod Med*. 1997;52:129–36.
 92. Abramson C, Wilton J. Inhalation of nail dust from onychomycotic toenails. Part I. Characterization of particles. 1985. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1992;82(2):111–15.
 93. Donaldson C, Carline T, Brown D, Gilmour P, Donaldson K. A study to ascertain the potential inhalation hazard of toenail dust. *Br J Pod*. 2003;6(1):28–32.
 94. English M. Fungi in dust from nail drills. *Chiropodist*. 1972;27:50–52.
 95. Donaldson CL, Carline T, Brown DM, Gilmour PS, Donaldson K. Toenail dust particles: A potential inhalation hazard to podiatrists?. *Ann Occup Hyg*. 2002;46(1):365–68.
 96. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. Bioaerosol Health Effects and Exposure Assessment: Progress and Prospects. *Ann Occup Hyg*. 2003;47(3):187-200
 97. Lacey J, Crook B. Fungal and actinomycete spores as pollutants of the workplace



- and occupational allergens. *Ann Occup Hyg.* 1988;32(4):515–33.
98. Burrows JG, Millar N., Hay J, Stevenson R. Health and safety issues in the use of podiatric nail drills. *J Bri Pod Med.* 1996;51(11):161–4.
 99. Rees HG. Letter to: Burrows JC, McLarnon NA (2006), World and Work: Evidence based risk management of nail dust in chiropodists and podiatrists. *Occup Environ Med.* 2008;63:713-16 .
 100. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(2): 240–59.
 101. Elewski BE, Charif M. Prevalence of Onychomycosis in Patients Attending a Dermatology Clinic in Northeastern Ohio for Other Conditions. *Arch Dermatol.* 1997;133:1172–173.
 102. Gupta AK, Jain HC, Lynde CW, Macdonald P, Cooper EA, Summerbell RC. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: A Multicenter Canadian Survey of 15,000 Patients. *J Am Acad Dermatol.* 2000;43(2):244–48.
 103. Heikkilä H, Stubb S. The prevalence of onychomycosis in Finland. *Br J Dermatol.* 1995;133(5):699–703.
 104. Roberts DT. Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: Results of an omnibus survey. *Br J Dermatol.* 1992;126:23–27.
 105. Sais G, Jucgla A, Peyri J. Prevalence of dermatophyte onychomycosis in Spain: a cross-sectional study. *Br J Dermatol.* 1995;132(5):758–61.
 106. Sigurgeirsson B, Baran R. The prevalence of onychomycosis in the global population-A literature study. *J Eur Acad of Dermatol Venereol.* 2014;28(11):1480-91.
 107. Svejgaard EL, Nilsson J. Onychomycosis in Denmark: Prevalence of fungal nail infection in general practice. *Mycoses.* 2004;47(3–4):131–35.
 108. Murray SC, Dawber RPR. Onychomycosis of toenails: Orthopaedic and podiatric considerations. *Australas J Dermatol.* 2002;43(2):105–12.
 109. Achten GW. Onychomycosis in the laboratory. *Mykosen.* 1978;21:125–27.
 110. Kaur R, Kashyap B, Bhalla P. Onychomycosis - Epidemiology , Diagnosis and management. *Indian J Med Microbiol.* 2008;26(2):108–16.



111. Seebacher C, Bouchara JP, Mignon B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*. 2008;166(5-6):335–52.
112. Tortora GJ, Funke BR, Case C, Johnson T. *Microbiology: An Introduction*. 10th ed. San Francisco: Addison Wesley Longman; 2009.
113. Curtis L, Lieberman AD, Stark M, Rea W Vetter M. Adverse health effects of indoor moulds. *J Australas Coll Nutr Env Med*. 2004;23(3):261–74.
114. Summerbell RC. Epidemiology and ecology of onychomycosis. *Dermatology*. 1997;194(1):32–6.
115. Ellabib MS, Agaj M, Khalifa Z, Kavanagh K. Yeasts of the genus *Candida* are the dominant cause of onychomycosis in Libyan women but not men: Results of a 2-year surveillance study. *Br J Dermatol*. 2002;146(6):1038–41.
116. Bokhari MA, Hussain I, Jahangir M, Haroon TS, Aman S, Khurshid K. Onychomycosis in Lahore, Pakistan. *Int J Dermatol*. 1999;38(8):591–5.
117. Perea S, Ramos MJ, Garau M, Gonzalez A, Noriega AR, Del Palacio A. Prevalence and risk factors of tinea unguium and tinea pedis in the general population in Spain. *J Clin Microbiol*. 2000;38(9):3226–30.
118. Escalante MT, Sánchez-Borges M, Capriles-Hulett a, Belfort E, Di Biagio E, González-Aveledo L. Trichophyton-specific IgE in patients with dermatophytosis is not associated with aeroallergen sensitivity. *J Allergy Clin Immunol [Internet]*. 2000 [cited 2017 ene 22];105(3):547–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10719306>
119. Gupta AK, Konnikov N, MacDonald P, Rich P, Rodger NW, Edmonds MW, et al. Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects: A multicentre survey. *Br J Dermatol*. 1998;139(4):665–71.
120. Elewski BE. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis, and management. *Clin Microbiol Rev [Internet]*. 1998 [cited 2017 ene 22];11(3):415–29. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=88888&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
121. Woodfolk JA. Allergy and dermatophytes. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(1):30–43.
122. Scher RK, Tavakkol A, Sigurgeirsson B, Hay RJ, Joseph WS, Tosti A, et al. Onychomycosis: Diagnosis and definition of cure. *J Am Acad Dermatol*.



2007;56(6):939–44.

123. Nissen D, Petersen LJ, Esch R, Svejgaard E, Skov PS, Poulsen LK, et al. IgE-sensitization to cellular and culture filtrates of fungal extracts in patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 1998 [cited 2017 febr 25];81(3):247–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9759803>
124. Mari A, Schneider P, Wally W, Breitenbach M, Simon-Nobbe B. Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. *Clin Exp Allergy*. 2003;33(10):1429–38.
125. Ward G, Rose G, Karlsson G, Platts-Mills TE. Trichophyton asthma: sensitization of bronchi and upper airways to dermatophyte antigen. *Lancet*. 1989;333(8643):859–62.
126. Abramson C, Wilton J. Nail Dust Aerosols from onychomycotic toenails. Part II. Clinical and serologic aspects. 1985. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1992;82(2):116–23.
127. Gatley M. Human nail dust: hazard to chiropodists or merely nuisance?. *J Soc Occup Med*. 1991;41(3):121-25.
128. Alonso A, Pionetti CH, Mouchián K, Albónico JF, Irañeta SG, Potenza M, et al. Hipersensibilidad a los antígenos del *Trichophyton rubrum* en podólogos atópicos y no atópicos. *Allergol Immunopathol*. 2003;31(2):70-6.
129. Pugh J, Skone J. The health of the chiropodist in a developing community service. *The Chiropodist*. 1972;27:53–5.
130. Davies RR, Savage MA. Dust extractions drills. *The Chiropodist*. 1980;35(1):4–12.
131. Harvey CK. Comparision of the effectiveness of nail dust extractors. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1993;83(12):669–73.
132. Blair J, Burrows JG, Millar N., Aidoo K. Efficiency and effectiveness of dust extraction systems of podiatric nail drills. *Br J Pod Med*. 1999;2(2):53–60.
133. Davies RR, Ganderton MA. Allergic Hazards in Chiropody. *The Chiropodist*. 1975;30(4):89–92.
134. Davies RR, Gandert on MA, Savage MA. Human nail dust and precipitating antibodies to *Trichophyton rubrum* in chiropodists. *Clin Allergy* [Internet]. 1983 [cited 2017 mar 22];13(4):309–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6883663>
135. Kivity S, Schwarz Y, Fireman E. The association of perennial rhinitis with



- Trichophyton infection. Clin Exp Allergy. 1992;22(4):498–500.
136. Woodfolk JA, Wheatley LM, Piyasena RV, Benjamin DC, Platts-Mills T. Trichophyton antigens associated with IgE antibodies and delayed type hypersensitivity. Sequence homology to two families of serine proteinases. J Biol Chem. 1998;273(54):29489–96.
 137. Gatley M. Human nail dust: hazard to chiropodists or merely nissance? J Soc Occup Med. 1991; 41(3): 121-5.
 138. McLarnon N. The Ocular risk of human nail dust in podiatry [dissertation]. Glasgow: Caledonian University;2000.
 139. Matsuoka H, Niimi A, Matsumoto H, Ueda T, Takemura M, Yamaguchi M, et al. Specific IgE response to trichophyton and asthma severity. Chest. 2009;135(4):898–903.
 140. Woodfolk JA, J B Slunt BD, Hayden ML, Platts-Mills TA. Definition of a Trichophyton protein associated with delayed hypersensitivity in humans. Evidence for immediate (IgE and IgG4) and delayed hypersensitivity to a single protein. J Immunol. 1996;156(4):1695–701.
 141. Epstein S, Marshfield W. Examination of nails for fungi. Arch Dermatol Syphilol. 1945;51:209.
 142. Hainsworth S, Hambling JF, Vanniasinkam T. Isolation of Dermatophytes (and Other Fungi) from human nail and Skin Dust Produced by Podiatric Medical Treatments in Australia. J Am Podiatr Med Assoc. 2015;105(2):111–20.
 143. Old H. Airborne Transmission of Bacteria in a Chiropody Clinic -The Role of Curtains around treatment cubicles. Br J Podiatr Med. 1998;53:18–24.
 144. Nir-Paz R, Elinav H, Pierard GE, Walker D, Maly A, Shapiro M, et al. Deep Infection by Trichophyton rubrum in an Immunocompromised Patient. J Clin Microbiol. 2003;41(11):5298–301.
 145. Rosenthal S, Domenica Furnari B. The use of a Cliclohemide-Chloramphenicol in routine culture for fungi. J Invest Dermatol. 1956;(1):367–71.
 146. Clayton Y, Noble W. The air-borne spread of dermatophytes and candida albicans. Trans St Johns Hosp Dermatol Soc. 1963;49:36–8.
 147. English M., Gibson M. Studies in the epidemiology of tinea pedis. II. Dermatophytes



- on the floors of swimming-baths. *Br Med J*. 1959;1(5135):1446–8.
148. Detandt M, Nolard N. Fungal contamination of the floors of swimming pools, particularly subtropical swimming paradises. *Mycoses*. 1995;38(11–12):509–13.
149. Detandt M, Nolard N. Dermatophytes and swimming pools: seasonal fluctuations. *Mycoses*. 1988;31(10):495–500.
150. Humphreys PN, Davies CS, Rout S. An evaluation of the infection control potential of a UV clinical podiatry unit. *J Foot Ankle Res*. 2014;7(17):1–10.
151. World Health Organization. Household air pollution and health [Internet]. Switzerland: WHO Media Centre; 2016. Fact Sheet nº 292 [cited 2017 may 19]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs292/en/>
152. World Health Organization. Reducing Risks, Promoting Healthy Life [Internet]. Switzerland: WHO; 2002 [cited 2017 may 19]. Available from: http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf?ua=1
153. Ezpeleta Baquedano C, Barrios-Andrés JL, Delgado-Iribaren García-Campero A. Control microbiológico ambiental. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(6):396–401.
154. Rezusta López A, Sanchez Sousa A, Gil Tomás J. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. En: Permán J, Martín Mazuelos E, Rubio Calvo MC. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Microbiología Clínica*. 2ª Ed Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología; 2007. p.1-22
155. Barrios Andrés J., Delgado-Iribaren A, Ezpeleta Baquedano C. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2012. p. 1–31.
156. Garg J, Tilak R, Singh S, Gulati AK, Garg A, Prakash P, et al. Evaluation of Pan-Dermatophyte Nested PCR in Diagnosis of Onychomycosis. *J Clin Microbiol*. 2007;45(10):3443–5.
157. Brillowska-Dabrowska A, Saunte D., Arendrup M. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Tricophyton rubrum*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1200–4.
158. Iglesias MJ, Pérez A, Muñoz del Rey J, Acevedo R. Técnicas de Diagnóstico Alternativas en Dermatomicosis. *Rev Española Podol*. 2010;21(6):240–6.
159. Jennings MB, Weinberg JM, Koestenblatt EK, Lesczczynski C. Study of clinically



- suspected onychomycosis in a podiatric population. J Am Pod Med Assoc [Internet]. 2002 [cited 2017 may 25];92(6):327–30. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt= Citation&list_uids=12070232
160. Mayordomo Acevedo R, Hidalgo Ruiz S, Pérez Pico A. Estudio de la eficacia de la sospecha clínica en la detección de onicomicosis. Rev Española Podol. 2007;18(3):114–20.
 161. Davies RR. Human Nail Dust in Chiropodial Practise: irritant, allergen and source of antibodies to *Trichophyton rubrum*. J R Soc R Soc Heal. 1984;104(1):1–5.
 162. Seyfarth F, Ziemer M, Gräser Y, Elsner P, Hipler U. Widespread tinea corporis caused by *Trichophyton rubrum* with non- typical cultural characteristics: diagnosis via PCR. Mycoses. 2007;50(2):26–30.
 163. Coloe S, Baird R. Dermatophyte infections in Melbourne: Trends from 1961/64 to 2008/09. Australas J Dermatol. 2010;51(4):258–62.
 164. Vasconcellos C, Pereira C, Souza MC, Pelegrini A, Freitas RS, Takahashi JP. Identification of fungi species in the onychomycosis of institutionalized elderly. An Bras Dermatol. 2013;88(3):377–80.
 165. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Trichophyton* spp. Madrid: INHT/Databio; 2013. DB-H-T.spp-13
 166. Tinley PD, Eddy K, Collier P. Contaminants in human nail dust: an occupational hazard in podiatry?. J Foot Ankle Res [Internet]. 2014[cited 2017 may 25];7(1):p.15. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3937521&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 167. Marchisio VF, Cassinelli C, Tullio V, Piscozzi A. Outdoor airborne dermatophytes and related fungi: a survey in Turin (Italy). Mycoses. 1992;35(9–10):251–7.
 168. Harrel SK, Barnes JB, Rivera-Hidalgo F. Aerosol and Splatter Contamination From the Operative Site During Ultrasonic Scaling. J Am Dent Assoc [Internet]. 1998[cited 2017 may 25];129(9):1241–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002817714662656>
 169. Bennett AM, Fulford MR, Walker JT, Bradshaw DJ, Martin M V, Marsh PD. Microbial aerosols in general dental practice. Br Dent J. 2000; 189(12):664–67.



170. Leggat P, Kedjarune U. Bacterial aerosols in dental clinic. *Int Dent J*. 2000;51(1):39–44.
171. McLarnon N, Burrow G, Maclaren W, Aidoo K, Hepher M. The use of an air filtration system in podiatry clinics. *Int J Environ Health Res* [Internet]. 2003[cited 2017 23jun];13(2):215–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12745341>
172. Davis R, Savage M, Deacon P. Dust Extracting drills II. *The Chiropodist*. 1984;39:42–9.
173. Burrows JG, McLarnon NA. World at work: Evidence based risk management of nail dust in chiropodists and podiatrists. *Occup Env Med*. 2006;63(10):713-16.
174. Rosas I, Calderon C, Martínez L, Ulloa M, Lacey J. Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico city. *Aerobiologia (Bologna)*. 1997;15:66-73.
175. Stępańska D, Harmata K, Kasprzyk I, Myszkowska D, Stach A. Occurrence of airborne *Cladosporium* and *Alternaria* spores in southern and central Poland in 1995-1996. *Aerobiologia (Bologna)*. 1999;15(1):39–47.
176. Henríquez VI, Villegas GR, Nolla JMR. Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. *Aerobiologia (Bologna)*. 2001;17(2):137–42.
177. Shelton BG, Kirkland KH, Flanders WD, Morris GK. Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States Profiles of Airborne Fungi in Buildings and Outdoor Environments in the United States. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68(4):1743–53.
178. Morales J. Estudio aerobiológico de las esporas de hongos en la atmósfera de Sevilla y su relación con las variables climáticas [tesis doctoral]. Sevilla: Facultad de Farmacia;2004.
179. Elvira Rendueles ML. Caracterización aeropalinológica del bioaerosol atmosférico de la Ciudad de Cartagena. Universidad Politécnica de Cartagena [tesis doctoral]. Cartagena: Universidad Politécnica;2001.
180. Salvaggio J, Aukrust L. Mold-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(5):327–46.
181. Chaumont J, Berrard N, Simeray J, Leger D. Fungal spores in the atmosphere at Besancon, France: seasonal and annual variations during 1988 and 1989. *Ann Pharm Fr*. 1990;48:136–44.



182. Beaumont F, Kauffman HF, Sluiter HJ, De Vries K. Sequential sampling of fungal air spores inside and outside the homes of mould-sensitive, asthmatic patients: a search for a relationship to obstructive reactions. *Ann Allergy* [Internet]. 1985[cited 2017 jul 12];55(5):740–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4061983>
183. Infante F, Alba F, Caño M, Castro A, Domínguez E, Méndez J, et al. A Comparative Study of the Incidence of *Cladosporium Conidia* in the Atmosphere of Five Spanish Cities. *Polen*. 1999;10:05–13.
184. Mullins J, Harvey R, Seaton A. Sources and incidence of airborne *Aspergillus fumigatus* (Fres). *Clin Exp Allergy*. 1976;6(3):209–17.
185. Ren P, Jankun TM, Leaderer BP. Comparisons of seasonal fungal prevalence in indoor and outdoor air and in house dusts of dwellings in one Northeast American county. *J Expo Anal Environ Epidemiol* [Internet]. 1999 [cited 2017 may 30];9(6):560–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10638841>
186. Pastuszka JS, Kyaw Tha Paw U, Lis DO, Wlazło A, Ulfig K. Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmos Environ*. 2000;34(2):3833–42.
187. Ren P, Jankun TM, Belanger K, Bracken MB, Leaderer BP. The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics. *Allergy*. 2001;56(5):419–24.
188. Asensio Cristóbal L, Lagoma Lorén L, Mirón Hernández A, Harto Castaño A. Instituto Nacional de Seguridad, Salud y Bienestar en el Trabajo [Internet]. Madrid: INSSBT; 2001 [citado 30 mayo 2017]. Identificación de los agentes biológicos más frecuentes en los estudios sobre la calidad de ambientes interiores del área urbana de Madrid. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/RiesgosBiologicos/menuitem.6226f1a473e32eabea14cc1c180311a0/?vgnnextoid=4cfbe8b54a02d310VgnVCM1000008130110aRCRD&vgnnextchannel=7638b25b3011d310VgnVCM1000008130110aRCRD>
189. Rainer J, Peintner U, Pöder R. Biodiversity and concentration of airborne fungi in a hospital environment. *Mycopathologia*. 2001;149(2):87–97.
190. Sanca S, Asan A, Otkun M, Ture M. Monitoring Indoor Airborne Fungi and Bacteria in the Different Areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. *Indoor Built Env*. 2002;11(5):285–92.



191. Soto T, Garcia Murcia RM, Franco A, Vicente-Soler J, Cansado J, Gacto M. Indoor airborne microbial load in a Spanish university (University of Murcia, Spain). *An Biol.* 2009;31:109–15.
192. Borrego Alonso S, Perdomo Amistad I. Caracterización de la micobiota aérea en dos depósitos del Archivo nacional de la República de Cuba. *Rev Iberoam Micol.* 2014;31(3):182–7.
193. Crook B, Burton NC. Indoor moulds, Sick Building Syndrome and building related illness. *Fungal Biol Rev.* 2010;24(3-4):106–13.
194. Jo WK, Seo YJ. Indoor and outdoor bioaerosol levels at recreation facilities, elementary schools, and homes. *Chemosphere.* 2005;61(11):1570–9.
195. Aydogdu H, Asan A. Airborne fungi in child day care centers in Edirne City, Turkey. *Environ Monit Assess.* 2008;147(1–3):423–44.
196. Medrela-Kuder E. Seasonal variations in the occurrence of culturable airborne fungi in outdoor and indoor air in Cracow. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2003;52(4):203–5.
197. Gravesen S, Larsen L, Gyntelberg F, Skov P. Demonstration of microorganisms and dust in schools and offices. *Allergy.* 1986;41(7):520–25.
198. Mainelis G, Tabayoyong M. The Effect of Sampling Time on the Overall Performance of Portable Microbial Impactors. *Aerosol Sci Technol.* 2010;44(1):75–82.

ANEXOS

Anexo 1
Consentimiento Informado

HOJA DE INFORMACIÓN AL PROFESIONAL Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del podólogo/a:

Nº de DNI del podólogo/a:

Nombre de la Clínica:

Dirección de la Clínica:

Teléfono:

Nº de identificación:

Fecha:

A.- IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

Evaluación del bioaerosol fúngico presente en el aire interior de las clínicas de podología en la comunidad de Madrid.

B.- CONSENTIMIENTO:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre el desarrollo del estudio en el que se le propone participar. Estamos realizando un estudio cuya finalidad es demostrar si determinados tratamientos podológicos generan bioaerosoles contaminados por hongos filamentosos que, una vez inhalados, puedan suponer un riesgo potencial para la salud del podólogo. Para ello, necesitamos recoger seis muestras del aire interior de la sala de quiropodología donde se realiza el fresado de las láminas ungueales. Se recogerán, dos muestras antes de comenzar la actividad, otras dos durante la actividad y, las dos últimas, al terminar la actividad en la sala, justo después del último paciente. Se utilizará para ello un muestreador por impacto (M Air T-Millipore) que se colocará cerca de la zona de respiración del podólogo, puesto que esta es el área que se considera más sensible para la captación de hongos. Además, les pediremos que participen en la cumplimentación de un cuestionario de salud, muy breve, cuyas preguntas tratan de conocer la prevalencia de sintomatología de respiratoria (si padecen o han padecido algún problema de tipo respiratorio-alérgico). Este cuestionario no hace falta rellenarlo en el mismo día. Puede ser cumplimentado cuando lo deseen y enviado a través de correo electrónico. El objetivo es conocer mejor el entorno de trabajo de las salas de quiropodología para ejercer la práctica diaria de la profesión con mayor seguridad.

El muestreo, probablemente se repetirá en la estación de verano. Se lo confirmaremos una vez concluida esta evaluación preliminar.

Todos los datos recogidos para el estudio, serán tratados con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. Debe saber que tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de los mismos en cualquier momento.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo el investigador principal podrá relacionar dichos datos con usted.

- he leído la hoja de información que se me ha entregado.
- he recibido suficiente información sobre el estudio.
- he podido aclarar mis dudas y hacer preguntas sobre el estudio.

He comprendido que mi participación es completamente voluntaria y que puedo retirarme del estudio:

- cuando quiera.
- sin tener que dar explicaciones.
- sin que esta decisión produzca ningún perjuicio sobre mí salud.

Acepto participar, libre y voluntariamente en este estudio.

Accedo a permitir el muestreo del aire interior de la sala, según lo indicado anteriormente.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Lugar _____ a _____ de _____ de 20__

Firma del profesional

Firma del investigador

Firma del testigo cuando el consentimiento
informado sea dado oralmente

Anexo 2
Resultados de los muestreos:
Estación de Primavera

TABLA 2A: ESTUDIO EN EXTERIOR EN PRIMAVERA. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE EXTERIOR

ESPECIES EXTERIOR PRIMAVERA	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE PRIMAVERA - FASE DE EXTERIOR																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Penicillium spp.	16	13	7	7	18	5	8	62	10	-	21	-	-	-	6	5	-	178
Mucorales	1	-	2	-	-	5	3	5	5	16	1	3	-	-	-	2	1	44
Aspergillus spp.	2	-	-	2	-	-	2	7	-	2	-	4	-	-	3	2	9	33
Alternaria spp.	5	-	-	10	1	-	-	-	-	-	1	1	1	1	4	-	-	24
Drechslera spp.	-	5	1	-	-	-	-	-	3	-	-	2	3	-	-	-	-	14
Curvulariaspp.	-	7	2	2	-	5	-	8	3	-	-	-	-	8	-	3	-	38
Cladosporium spp.	-	6	-	7	59	8	3	-	2	-	2	37	103	3	3	-	-	233
Paecilomyces spp.	-	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Trichoderma spp.	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Absidia spp.	-	-	-	-	-	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	4
Ulocladium spp.	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Scopulariopsis spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
TOTALES UFC/m3	24	35	14	28	78	28	16	82	25	18	25	48	107	12	16	12	11	571
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	33,59																	

TABLA 2B: ESTUDIO EN INTERIOR EN PRIMAVERA. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE PRE ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR PRIMAVERA PRE ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE PRIMAVERA - FASE DE PRE ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Penicillium spp.	12	17	6	7	-	12	1	2	5	1	-	-	-	15	-	-	-	78
Mucorales	-	-	-	-	-	2	-	1	1	1	2	3	-	-	-	-	1	13
Aspergillus spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	1	-	5
Alternaria spp.	-	-	1	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	35	-	57
Drechslera spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Curvulariaspp.	-	-	3	3	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2	3	13
Cladosporium spp.	-	5	-	1	2	-	-	-	-	1	2	8	3	2	34	8	6	72
Paecilomyces spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Trichoderma spp.	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Absidia spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Ulocladium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Scopulariopsis spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	2	-	-	-	7
TOTALES UFC/m3	12	22	10	26	2	14	3	3	7	8	4	10	6	23	41	46	10	247
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	14,59																	

TABLA 2C: ESTUDIO EN INTERIOR EN PRIMAVERA. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR PRIMAVERA ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE PRIMAVERA - FASE DE ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Penicillium spp.	4	-	6	10	40	3	12	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-	79
Mucorales	1	-	1	-	-	-	-	-	1	2	2	4	1	-	-	1	-	13
Aspergillus spp.	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	-	-	-	8
Alternaria spp.	1	-	-	2	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Drechslera spp.	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Curvulariaspp.	-	1	2	-	-	2	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	7
Cladosporium spp.	-	2	-	-	11	-	-	-	-	-	2	85	-	4	12	2	-	118
Paecilomyces spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Trichoderma spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Absidia spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Ulocladium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Scopulariopsis spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
TOTALES UFC/m3	6	3	10	16	58	5	12	0	4	4	9	90	2	6	12	3	1	241
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	14,35																	

TABLA 2D: ESTUDIO EN INTERIOR EN PRIMAVERA. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE POST ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR PRIMAVERA POST ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE PRIMAVERA - FASE DE POST ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Penicillium spp.	9	1	7	5	7	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	70
Mucorales	2	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	2	1	3	1	1	-	14
Aspergillus spp.	2	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	2	-	8
Alternaria spp.	-	2	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Drechslera spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	3
Curvulariaspp.	-	-	2	1	-	1	1	-	3	-	-	-	1	-	-	1	-	10
Cladosporium spp.	-	3	-	-	13	-	-	-	-	-	1	24	-	2	-	-	6	49
Paecilomyces spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Trichoderma spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Absidia spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Ulocladium spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Scopulariopsis spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
TOTALES UFC/m3	13	6	9	9	21	1	2	0	5	2	4	28	3	5	1	44	6	159
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	9,53																	

Anexo 3
Resultados de los muestreos:
Estación de Verano

TABLA 3A: ESTUDIO EN EXTERIOR EN VERANO. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE EXTERIOR

ESPECIES EXTERIOR VERANO	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE VERANO - FASE DE EXTERIOR																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	-	10	-	-	12	-	11	2	12	-	-	2	8	1	58
Mucorales	-	6	-	10	-	-	1	3	2	1	4	-	1	1	2	6	1	38
<i>Aspergillus</i> spp.	9	3	-	1	-	5	1	3	4	2	-	2	-	3	1	7	5	46
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	4
<i>Drechslera</i> spp.	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	3
<i>Curvularia</i> spp.	-	-	-	10	5	-	-	1	-	-	7	-	-	-	-	-	-	23
<i>Cladosporium</i> spp.	-	-	-	3	29	2	2	1	3	-	-	10	3	-	37	-	8	98
<i>Paecilomyces</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	4	-	-	-	-	-	-	5
<i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Absidia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ulocladium</i> spp.	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Scopulariopsis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	2	-	-	6
TOTALES UFC/m3	9	9	0	24	45	8	4	20	11	14	21	24	4	4	50	21	15	283
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	16,65																	

TABLA 3B: ESTUDIO EN INTERIOR EN VERANO. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE PRE ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR VERANO PRE ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE VERANO - FASE DE PRE ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
<i>Penicillium</i> spp.	11	-	3	1	-	-	-	-	1	15	3	10	-	-	-	4	3	51
Mucorales	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	1	1	-	-	-	1	1	7
<i>Aspergillus</i> spp.	1	-	1	-	-	-	-	-	-	8	-	-	1	3	-	1	3	18
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	5
<i>Drechslera</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Curvularia</i> spp.	5	-	-	1	-	-	-	-	4	-	3	-	-	-	-	2	-	15
<i>Cladosporium</i> spp.	-	4	-	4	2	-	-	-	2	60	-	2	2	-	-	-	7	83
<i>Paecilomyces</i> spp.	2	-	-	1	-	-	-	-	4	7	-	-	-	-	-	-	-	14
<i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Absidia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Scopulariopsis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3
TOTALES UFC/m3	19	5	4	7	2	1	0	1	7	87	17	13	4	3	0	13	14	197
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	11,59																	

TABLA 3C: ESTUDIO EN INTERIOR EN VERANO. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR VERANO ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE VERANO - FASE DE ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
<i>Penicillium</i> spp.	1	-	2	1	8	-	-	4	-	1	1	-	-	-	-	-	-	18
Mucorales	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	4
<i>Aspergillus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	1	-	-	-	1	-	13	18
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	1	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>Drechslera</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	2
<i>Curvularia</i> spp.	2	-	1	-	-	-	-	-	1	2	-	10	-	-	2	2	-	20
<i>Cladosporium</i> spp.	2	-	-	-	18	2	2	2	-	-	-	12	1	-	20	7	5	71
<i>Paecilomyces</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3
<i>Absidia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	3
<i>Scopulariopsis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
TOTALES UFC/m3	6	0	4	1	28	3	3	9	1	4	2	25	2	1	25	11	18	143
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	8,41																	

TABLA 3D: ESTUDIO EN INTERIOR EN VERANO. CONCENTRACIONES POR ESPECIE Y CLINICA - FASE DE POST ACTIVIDAD

ESPECIES INTERIOR VERANO POST ACTIVIDAD	CONCENTRACION (UFC/m3) POR ESPECIE Y CLINICA - ESTACION DE VERANO - FASE DE POST ACTIVIDAD																	TOTAL POR ESPECIE UFC/m3
ESPECIE / CLINICA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	2	1	4	-	-	3	-	-	1	2	-	-	-	-	-	13
Mucorales	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3
<i>Aspergillus</i> spp.	1	1	-	-	-	-	-	1	1	-	2	-	-	5	-	-	-	11
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>Drechslera</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Curvularia</i> spp.	2	-	1	-	-	-	2	-	-	2	-	-	2	4	1	10	-	24
<i>Cladosporium</i> spp.	3	2	1	2	6	-	6	-	-	-	-	2	5	-	6	15	1	49
<i>Paecilomyces</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Trichoderma</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2
<i>Absidia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
<i>Ulocladium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d
Levaduras	3	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	1	1	-	2	-	10
<i>Scopulariopsis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	7
TOTALES UFC/m3	9	3	4	3	10	4	8	4	2	2	3	6	10	17	7	27	1	120
MEDIA TOTAL CLINICAS UFC/m3	7,06																	



**Facultad de Enfermería,
Fisioterapia y Podología**

Universidad Complutense de Madrid

